بررسی اثر ضد باکتریایی عصاره متانولی گیاه اسپند در شرایط آزمایشگاهی بر روی تعدادی از باکتری‌های مهم بیماری‌زای منتقله از موادغذایی

طیبه زینلی[۱]، محمد محسن‌زاده [۲*]، رویا رضائیان دلوئی[۳]، رویا نبی‌پور[٤]

۱- متخصص بهداشت مواد غذایی، فارغ التحصیل دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
۲- دانشیار گروه بهداشت مواد غذایی و آبزیان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
۳- استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران
٤- دانشجوی دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گیلان، رشت، ایران
* نویسنده مسئول مکاتبات: mohsenza@um.ac.ir
(دریافت مقاله: ۹۳/۹/۱۲ پذیرش نهایی: ۹٤/۱۱/۱۵)

Archive of SID

چکیده

باکتری‌های با منشأ غذایی در ایجاد عفونت‌ها یا مسمومیت‌های غذایی در انسان نقش دارند. با افزایش روزافزون تعداد سویه‌های باکتریایی مقاوم به آنتی‌بیوتیک تلاش فراوانی جهت استفاده از خواص ضدمیکروبی گیاهان انجام می‌گیرد. گیاه اسپند از جمله گیاهان دارویی در طب سنتی ایران بوده که از گذشته از آن به‌عنوان ضدعفونی کننده استفاده می‌گردید. در میان باکتری‌های بیماری‌زای غذایی، *اشریشیا کلی* O157:H7، *سالمونلا تیفی‌موریوم* و *لیستریا مونوسیتوژنز* جزو باکتری‌های خطرناک و شناخته‌شده می‌باشند. این تحقیق با هدف تعیین اثر ضدمیکروبی عصاره متانولی گیاه اسپند بر رشد این باکتری‌ها در شرایط آزمایشگاهی انجام شد. تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و حداقل غلظت باکتری‌کشی (MBC) عصاره با استفاده از روش رقیق‌سازی در محیط مولر هینتون براث تعیین گردید. طبق نتایج مطالعه، MIC عصاره متانولی گیاه اسپند برای باکتری‌های *اشریشیا کلی* O157:H7 و *سالمونلا تیفی‌موریوم* ۱/۵٦ میلی‌گرم در میلی‌لیتر و برای باکتری *لیستریا مونوسیتوژنز* ۰/۷۸ میلی‌گرم در میلی‌لیتر تعیین شد. هم‌چنین، MBC عصاره متانولی گیاه اسپند برای باکتری‌های مذکور مشابه MIC آن‌ها بود. با توجه به نتایج به‌دست آمده، پیشنهاد می‌شود از عصاره گیاه اسپند به‌عنوان جزئی از فرمولاسیون محلول‌های ضدعفونی کننده مواد غذایی استفاده گردد.

واژه‌های کلیدی: عصاره متانولی اسپند، *اشریشیا کلی*، *سالمونلا تیفی‌موریوم*، *لیستریا مونوسیتوژنز*

www.SID.ir

مقدمه

با پیشرفت علم داروسازی و جایگزینی داروهای ساختنی و آنتی‌بیوتیک‌های مختلف با داروهای دارای منشا گیاهی، به تدریج اثرات مضر داروهای ساختنی ظاهر شده است. از دهه ۱۹۵۰ باکتری‌های بیماری‌زای متعددی به آنتی‌بیوتیک‌ها مقاومت نشان دادند که این مقاومت هم‌چنان در حال گسترش است. بنابراین امروزه تلاش بر این است تا از ترکیبات گیاهی جهت دستیابی به ترکیبات آنتی‌میکروب و یا مواد نگه‌دارنده جدید استفاده شود که مشکل بروز باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک نیز از بین رود (Mirheydar, 1993).

گیاه اسپند (*Peganum harmala*) گیاهی چند ساله، متعلق به خانواده زیگوفیلاسه (Zygophylaceae) بوده و به‌عنوان یک گیاه دارویی دارای کاربردهای متنوعی می‌باشد (Herraiz *et al*., 2010). این گیاه در مناطق نیمه خشک و خاک‌های ماسه‌ای بویژه در آفریقای شمالی و خاورمیانه رشد می‌کند (El-Bahri and Chemli, 1991) هم‌چنین، این گیاه در مناطق مختلف ایران چون خراسان، سیستان و بلوچستان و یزد رشد می‌نماید (Mahdavi *et al*., 2002). دانه‌های این گیاه حاوی ۲ تا ٦٪ آلکالوئیدهای فعال فارماکولوژیکی می‌باشد (El-Rifaie, 1980) که اغلب آنها ترکیبات بتا-کاربولین (B-carboline)، شامل هارمان (Harman)، هارمین (Harmine)، هارمالین (Harmaline) و هارمالول (Harmalol) می‌باشند (Nenaah, 2010; Herraiz *et al*., 2010). هارمالین از نظر داروشناسی دارای اثرات سمی، قارچ‌کش و باکتری‌کشی می‌باشد (Hashemi *et al*., 2011; Mahmoudian *et al*., 2002; Hashem *et al*., 2011; Frison *et al*., 2008; Nenaah, 2010). دانه گیاه اسپند در ایران از دیرباز به‌عنوان یکی از گیاهان دارویی مهم در طب سنتی مطرح بوده است. خصوصیات فارماکولوژیک متعددی برای اسپند در نظر گرفته‌اند که از این جمله اثرات ضدمیکروبی، ضد تومور و مهارکننده فعالیت مونوآمینواکسیدازی آن می‌باشد (Abdel-Fattah *et al*., 1997; Hayet *et al*., 2010). در ایران و ترکیه دود اسپند به شکل وسیع به‌عنوان یک عادت فرهنگی متداول و یک عامل ضدعفونی‌کننده به کار می‌رود (Shahverdi *et al*., 2008).

باکتری‌های *اشریشیا کلی* O157:H7 (*Escherichia coli* O157:H7)، *سالمونلا تیفی موریوم* (*Salmonella Typhimurium*) و *لیستریا مونوسیتوژنز* (*Listeria monocytogenes*) از عوامل مهم مسبب عفونت‌های ناشی از مصرف مواد غذایی می‌باشند. *اشریشیا کلی*O157:H7 می‌تواند منجر به ایجاد بیماری‌های کشنده‌ای از قبیل کولیت هموراژیک (Tesh and O'Brien, 1991)، سندرم همولیتیک اورمیک و ترومبوتیک ترومبوسایتوپنیک پورپورا (O'Brien and Kaper, 1998) با دوز عفونی بسیار اندک در حد ۱۰ میکروارگانیسم گردد (FDA, 2001). *سالمونلا تیفی موریوم* از جمله سروگروپ‌های سالمونلا می باشد که دارای میزبان اختصاصی نمی‌باشد (Foley and Lynne, 2008) و به‌عنوان یک عامل بیماری‌زای منتقله از مواد غذایی، خطراتی را برای بهداشت انسانی در بر دارد (Foley and Lynne, 2008). مطالعات اخیر نشان داد، که این سروتیپ جزو غالب‌ترین سروتیپ‌های سالمونلا جدا شده از موارد گاستروانتریت در انسان با منشا غذایی می‌باشد (Herikstad *et al*., 2002). لیستریوز انسانی به واسطه *لیستریا مونوسیتوژنز* منجر به مننژیت، مننگوانسفالیت، باکتریمی و سپتی سمی می‌شود و

www.SID.ir

کشندگی بالایی دارد. بین سال‌های ۱۹۹۱ و ۲۰۰۲ در اروپا ۱۹ اپیدمی این باکتری در ۹ کشور مختلف گزارش شده است (De Valk *et al*., 2005).

تا بحال مطالعات زیادی راجع به اثر ضدمیکروبی عصاره‌های گیاهی صورت گرفته است (Darabpour *et al*., 2011; Safahani *et al*., 2011; Diba *et al*., 2009). داراب‌پور و همکاران (۲۰۱۱) به بررسی اثرات آنتی‌باکتریال عصاره اسپند علیه چند باکتری مقاوم به آنتی‌بیوتیک از جمله *سالمونلا تیفی* پرداختند. نتایج این مطالعه نشان داد که عصاره اسپند اثرات آنتی‌باکتریال خوبی علیه میکروارگانیسم‌های دارای مقاومت به چندین آنتی‌بیوتیک دارد. در مطالعه صفاهانی و همکاران (۲۰۱۱) اثر ضدباکتریایی ۲۳ گونه مختلف گیاهی از جمله اسپند بر روی *استافیلوکوکوس* (*Staphylococcus*) مقاوم و حساس به متی سیلین بررسی گردید که نشان‌دهنده اثر بسیار خوب گیاه اسپند بود. در مطالعه دیگری اثر عصاره الکلی گیاه اسپند بر روی مخمرهای جنس کاندیدا (*Candida*) و کپک‌های آسپرژیلوس (*Aspergillus*) بیماری‌زا در شرایط آزمایشگاهی بررسی گردید. بر اساس یافته‌های این مطالعه، عصاره الکلی دانه‌های اسپند فعالیت مهارکننده و کشنده معنی‌داری بر روی مخمرهای کاندیدا نشان داد (Diba *et al*., 2009).

با توجه به اثرات ضدمیکروبی گزارش شده از گیاه اسپند، این مطالعه با هدف تعیین اثرات ضدباکتریایی این گیاه علیه برخی از باکتری‌های مهم بیماری‌زای منتقله از مواد غذایی انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

تهیه عصاره متانولی گیاه اسپند

گیاه اسپند در فصل تابستان از دشت‌های استان خراسان جمع‌آوری و در سایه خشک شد. هویت گیاه توسط بخش گیاه پزشکی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد تأیید شد. پس از خشک شدن آسیاب گردید.

به منظورعصاره‌گیری، از روش خیساندن استفاده شد. به مقدار ۲۰۰ گرم از گیاه پودر شده، ۱۰۰۰ میلی‌لیتر متانول ۷۰ درصد اضافه و به مدت ۲٤ ساعت بر روی دستگاه تکان‌دهنده (Shaker, PIP-Model R430) (Iran قرار گرفت. سپس محلول به کمک کاغذ صافی و قیف بوخنرصاف شده و مجدداً به تفاله باقی‌مانده الکل ۷۰٪ اضافه شد و این بار نیز ارلن به مدت ۱۲ ساعت بر روی دستگاه تکان‌دهنده قرار داده شد. در نهایت محلول صاف شده توسط دستگاه تقطیر در خلاء در دمای ۵۰ درجه سلسیوس و سرعت چرخش ۷۰ دور در دقیقه تا ۱/۳ حجم اولیه تغلیظ گردید (Kordali *et al*., 2005; Mazandarani *et al*., 2007).

باکتری‌های مورد استفاده

باکتری‌های مورد استفاده در این مطالعه شامل *اشریشیا کلی* O157:H7 (ATCC: 35150)، *سالمونلا تیفی موریوم* (ATCC: 14028) و *لیستریا مونوسیتوژنز* (ATCC: 7644) بودند. برای به‌دست آوردن سوسپانسیون باکتریایی ابتدا هر کدام از باکتری‌های استاندارد بر روی محیط کشت عصاره قلب و مغز (Brain Heart Infusion Agar -BHA) کشت و به‌مدت ۲٤ ساعت در ۳۷ درجه سلسیوس گرمخانه‌گذاری شدند. سپس از پرگنه‌های رشد کرده بر روی محیط کشت برداشت و به لوله‌ای استریل حاوی

Archive of SID
www.SID.ir

محلـول سـرم فیزیولـوژی منتقـل گردیـد تـا از لحـاظ کدورت ظاهری هماهنگ با لوله ۰/۵ مک فارلنـد شـود. سوسپانسیون تهیه شده حاوی $1/5 \times 10^8$ cfu/ml (واحد تشکیل‌دهنده پرگنه در هـر میلـی‌لیتـر محلـول) در نظـر گرفته شد. جذب نوری این سوسپانسیون در طول مـوج ٦٢٥ نانومتر، معادل ۰/۱ بود (CLSI, 2012).

تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی (Minimum Inhibitory Concentration -MIC) عصاره متانولی اسپند

ابتدا جهت به‌دست آوردن غلظت ۲۰٪ عصاره، ۲ گرم از عصاره در ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر استریل حل گردیـد و سپس از این محلول رقت‌هـای متـوالی تهیـه گردیـد. بنابراین غلظت‌های مورد استفاده در ایـن مطالعـه از ۰/۱ میلی‌گـرم در هـر میلـی‌لیتـر تـا ۲۰۰ میلـی‌گـرم در هـر میلی‌لیتر بودند.

حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره (MIC) با اسـتفاده از روش سـری دو برابـر رقـت لولـه‌ای (Macro broth dilution) در محیط مـولر هینتـون بـراث تعیـین گردیـد (Chandrasekaran and Venkatesalu, 2004). در ایـن آزمایش از یک سری ۱۲ تایی لوله آزمایش استفاده شـد. عصاره در لوله شماره ۱ با غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در هـر میلی‌لیتر (۰/۲ گرم در میلی‌لیتر محیط کشـت) تـا لولـه شماره ۱۲ بـا غلظـت ۰/۱ میلـی‌گـرم در هـر میلـی‌لیتـر (۰/۰۰۰۱ گرم در میلی‌لیتر محـیط کشـت) رقـت‌سـازی شد. در هـر لولـه تلقـیح بـاکتری بـه میـزان 10^6 واحـد تشکیل‌دهنده پرگنه در هر میلی‌لیتر انجام شد. بـرای هـر رقت یک لوله کنترل منفی حاوی محـیط مـولر هینتـون براث و عصاره متانولی اسپند بدون تلقیح باکتری در نظر گرفته شد. هم‌چنین، برای هر سری آزمایش، یـک لولـه کنترل مثبت حـاوی محـیط مـولر هینتـون بـراث، فاقـد عصاره اسپند و تلقیح باکتری مد نظر قرار گرفـت. کلیـه لوله‌ها در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ٢٤ سـاعت گرمخانه‌گذاری شدند. پس از آن لوله‌ها از نظر کـدورت ناشی از رشد باکتری تلقیح شده بررسی و لولـه حـاوی کمترین غلظت عصاره که کدورت قابـل مشـاهده در آن ایجاد نشده بود، به عنوان کمتـرین غلظـت مهارکننـدگی رشد باکتری (MIC) تعیین گردیـد. آزمـایش بـرای هـر یـــک از بـــاکتری‌هـــا در دو تکـــرار انجـــام شـــد (Chandrasekaran and Venkatesalu, 2004).

تعیین حداقل غلظت باکتری‌کشی (Minimum Bactericidal Concentration -MBC) عصاره متانولی گیاه اسپند

پس از تعیین حداقل غلظـت مهارکننـدگی (MIC) از لوله‌های فاقد کدورت رشد، مقدار ۰/۱ میلی‌لیتر برداشته و روی پلیت‌های حاوی محـیط مـولر هینتـون آگـار بـه صورت سطحی کشت داده شـد. پلیـت‌هـا بـه‌مـدت ٢٤ ساعت در ۳۷ درجه سلسیوس گرمخانه‌گذاری و بعـد از ٢٤ ساعت پلیت‌ها از جهت رشد یا عدم رشد باکتری‌هـا مورد بررسی قرار گرفتند. پلیـت دارای کمتـرین غلظـت که مانع از رشد باکتری و تشکیل پرگنه بـر روی محـیط کشـــت شـــده بـــود، بـــه‌عنـــوان حـــداقل غلظـــت باکتری‌کشی(MBC) تعیین گردیـد (Chandrasekaran and Venkatesalu, 2004).

تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) آنتی‌بیوتیک

حداقل غلظت مهار کننـدگی آنتـی‌بیوتیـک سفکسـیم (Sigma-Aldrich, Germany) بـــرای بـــاکتری‌هـــای *اشریشیا کلی* و *سـالمونلا تیفـی‌موریـوم*، و کلرامفنیکـل (Sigma-Aldrich, Germany) تنهـــا بـــرای بـــاکتری

www.SID.ir

لیستریا مونوسیتوژنز با روش ماکروبراث دایلوشن در محیط مولر هینتون براث ارزیابی گردید. جهت تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی آنتی‌بیوتیک سفکسیم از یک سری ۸ تایی لوله آزمایش استفاده شد. آنتی‌بیوتیک سفکسیم در لوله اول با غلظت ۲۵ میکروگرم در میلی‌لیتر تهیه گردید و سایر رقت‌های مورد استفاده از آن تهیه گردید. غلظت‌های نهایی آنتی‌بیوتیک سفکسیم مورد استفاده از ۰/۲ تا ۲۵ میکروگرم در میلی‌لیتر بودند. در خصوص کلرامفنیکل نیز از رقت ۰/۴ تا ۵۰ میکروگرم در میلی‌لیتر استفاده گردید. پس از آن هر کدام از لوله‌ها به میزان 10^6 واحد تشکیل‌دهنده پرگنه در هر میلی‌لیتر محیط کشت بوسیله باکتری‌های مورد مطالعه تلقیح گردیدند. تمامی لوله‌ها در ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری شدند. بعد از این مدت لوله‌ای که در آن هیچ‌گونه کدورت قابل مشاهده‌ای نبود به‌عنوان کمترین غلظت مهارکنندگی (MIC) آنتی‌بیوتیک در نظر گرفته شد (CLSI, 2012; Chandrasekaran and Venkatesalu, 2004).

یافته‌ها

عصاره متانولی اسپند توانست در غلظت ۱/۵۶ میلی‌گرم در هر میلی‌لیتر رشد باکتری *اشریشیا کلی* O157:H7 و *سالمونلا تیفی‌موریوم* را مهار نماید. در حالیکه غلظت مهاری رشد در ارتباط با باکتری *لیستریا مونوسیتوژنز* ۰/۷۸ میلی‌گرم در هر میلی‌لیتر بود. حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) عصاره متانولی اسپند و آنتی‌بیوتیک‌های سفکسیم و کلرامفنیکل و حداقل غلظت باکتری‌کشی (MBC) عصاره متانولی اسپند در جدول (۱) نشان داده شده است.

جدول (۱)- حداقل غلظت میلی‌گرم در هر میلی‌لیتر مهارکنندگی و باکتری‌کشی عصاره متانولی اسپند و حداقل غلظت میلی‌گرم در هر میلی‌لیتر مهارکنندگی آنتی‌بیوتیک‌های مورد بررسی بر روی باکتری‌های مورد آزمایش

گونه باکتریایی	حداقل غلظت مهاری رشد			حداقل غلظت باکتری‌کشی
	عصاره متانولی اسپند	سفکسیم	کلرامفنیکل	عصاره متانولی اسپند
اشریشیاکلی O157:H7	۱/۵۶	۱/۵۶	–	۱/۵۶
سالمونلاتیفی‌موریوم	۱/۵۶	۱/۵۶	–	۱/۵۶
لیستریامونوسیتوژنز	۰/۷۸	–	۱۲/۵	۰/۷۸

– : برای باکتری مذکور از این آنتی بیوتیک جهت مقایسه استفاده نشده است.

Archive of SID
www.SID.ir

بحث و نتیجه‌گیری

بروز اثرات ناخواسته و سمی باقی‌مانده‌های دارویی در مواد غذایی توجه پژوهشگران را به استفاده از گیاهان دارویی به عنوان نگه‌دارنده جلب کرده است. در این میان اثرات ضد میکروبی بسیاری از گیاهان مورد استفاده در طب سنتی جهت کاهش یا مهار رشد باکتری‌ها مورد بررسی قرار گرفته است (Chandrasekaran and Venkatesalu, 2004; Ekhaise *et al*., 2010; Valero *et al*., 2010; Oussalah and Saucier, 2007). عصاره گیاه اسپند دارای آلکالوئیدهای مختلفی می‌باشد که دارای اثرات ضد میکروبی می‌باشند (Hayet *et al*., 2010; Nenaah, 2010; El-Rifaie, 1980;). در مطالعه‌ای نشان داده شد که تمام اجزای تشکیل‌دهنده گیاه اسپند (عصاره‌های کلروفرم، متانولی و غیره) فعالیت خوبی علیه *استافیلوکوکوس اورئوس* (*Staphylococcus aureus*) دارند (Prashanth and John, 1999).

در مطالعه حاضر عصاره متانولی اسپند توانست در غلظت ۱/۵٦ میلی‌گرم در هر میلی‌لیتر رشد باکتری *اشریشیا کلی* O157:H7 و *سالمونلاتیفی موریوم* را مهار نماید. ننا (۲۰۱۰) نیز در مطالعه‌ای به بررسی اثرات ضدباکتریایی و ضدقارچی آلکالوئیدهای بتا-کاربولین گیاه اسپند پرداخت. او در این مطالعه مشاهده کرد که هارمان موجود در اسپند دارای بیشترین فعالیت علیه باکتری *اشریشیا کلی* می‌باشد (Nenaah, 2010). پراشانت و جان (۱۹۹۹) نیز در مطالعه خود نشان دادند که عصاره متانولی اسپند دارای فعالیت ضد باکتریایی می‌باشد (Prashanth and John, 1999). داراب پور و همکاران (۲۰۱۱) نیز در مطالعه‌ای به بررسی اثرات ضدباکتریایی عصاره اسپند علیه چند باکتری مقاوم به آنتی‌بیوتیک پرداختند. در مطالعه آنها میزان MIC عصاره برای باکتری *سالمونلا تیفی* ۰/٦۲۵ میلی‌گرم در هر میلی‌لیتر به‌دست آمد. عصاره متانولی اسپند در مطالعه حاضر توانست در غلظت ۱/۵٦ میلی‌گرم در هر میلی‌لیتر باکتری *اشریشیا کلی* O157:H7 و *سالمونلا تیفی‌موریوم* را از بین ببرد که این یافته‌ها با نتایج مطالعه داراب‌پور و همکاران (۲۰۱۱) هم‌خوانی داشت.

میزان MIC و MBC عصاره اسپند برای باکتری *لیستریا مونوسیتوژنز* در مطالعه حاضر ۰/۷۸ میلی‌گرم در هر میلی‌لیتر تعیین شد. داراب‌پور و همکاران نیز در مطالعه خود اثر ضدلیستریایی عصاره ریشه اسپند را در غلظت‌های ۵۰ تا ٤۰۰ میلی‌گرم در هر میلی‌لیتر مشاهده نمودند. این در حالیست که هیچکدام از آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده در مطالعه ذکر شده قادر به مهار رشد این باکتری نبودند (کولیستین ۱۰ میکروگرم، متیسیلین ۵ میکروگرم، نالیدیکسیک اسید ۳۰ میکروگرم). در حالیکه در مطالعه حاضر عصاره اسپند توانست در غلظت بسیار پایین‌تری رشد باکتری را مهار نماید. پس با توجه به این می‌توان گفت که عصاره اسپند دارای اثرات ضدلیستریایی بوده و می‌توان از آن جهت کنترل این عامل بیماری‌زا استفاده نمود.

در مطالعه هاشمی و همکاران (۲۰۱۱) بررسی اثر ضدباکتریایی عصاره متانولی گیاهان آویشن شیرازی، مورد و اسپند بر روی سوش‌های استاندارد و ایزوله‌های بالینی *پسودوموناس آئروجینوزا* (*Pseudomonas aeruginosa*) حاوی بتالاکتاماز با طیف وسیع انجام گرفت. ٦۰ درصد از نمونه‌ها مقاوم به سفوتاکسیم، ٦٦ درصد مقاوم به سفتازیدیم، ٤۲ درصد مقاوم به آزترونام، ۳ درصد مقاوم به ایمی‌پنم و ۵ درصد مقاوم به

www.SID.ir

مروپنم بودند. از بین عصاره‌ها، آویشن شیرازی اثر بهتری در مقایسه با اسپند و مورد داشت. نتایج نشان دادند که سویه‌های بالینی *پسودوموناس آئروژنوزا* بیشترین مقاومت را در مقابل سفتازیدیم و سفوتاکسیم از خود نشان دادند. کمترین میزان مقاومت یا به عبارت دیگر، بیشترین میزان حساسیت نیز در مورد ایمیپنم و مروپنم دیده شد (Hashemi *et al*.,2011). نتایج مطالعه ذکر شده نشان می‌دهد که از عصاره گیاه اسپند می‌توان علیه باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک استفاده کرد.

در مطالعه‌ای که توسط فضلی بزاز و همکاران (۱۹۹۶) صورت گرفت، اثرات ضدمیکربی دود و آلکالوئیدهای تام گیاه اسپند با استفاده از روش رقت در آگار و تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی رشد میکروارگانیسم (MIC) بررسی شد. هم‌چنین اثر ضدمیکروبی دود حاصل از سوزاندن وزن مشخصی از دانه‌های اسپند، در دستگاه مخصوص و وارد کردن دود به محیط کشت حاوی میکروب مطالعه شد و حداقل وزن اسپند سوزانده شده برای مهار رشد میکروب محاسبه شد. آلکالوئیدهای تام بیشترین اثر را بر روی *کاندیدا آلبیکنس (Candida albicans)* در غلظت کمتر از ۱۰۰ گرم در هر میلی‌لیتر و هم‌چنین اثرات خوبی روی باکتری‌های گرم مثبت *استافیلوکوکوس اورئوس* و *میکروکوکوس لوتئوس (Micrococcus luteus)* در غلظت کمتر از ۱۵۰ گرم در هر میلی‌لیتر نشان داد، در حالیکه بر باکتری‌های گرم منفی به ویژه *پسودوموناس آئروجینوزا* در غلظت ۲۰۰۰ گرم در هر میلی‌لیتر کمترین پاسخ را نشان داد. غلظت‌های فوق به ترتیب اثری معادل ۸ گرم در هر میلی‌لیتر کلوتریمازول برای *کاندیدا* و ۱۰ گرم در هر میلی‌لیتر آمیکاسین برای *استافیلوکوکوس اورئوس* و ٤ گرم در هر میلی‌لیتر آمیکاسین برای *میکروکوکوس لوتئوس* و ٤٠ گرم در هر میلی‌لیتر جهت *پسودوموناس آئروجینوزا* داشت (Fazlibazaz *et al*., 1996). باتوجه به اینکه برای یک آنتی‌بیوتیک استاندارد اثر ضدمیکروبی در غلظت کمتر از ۱۰ گرم در هر میلی‌لیتر و برای یک ماده گیاهی خالص غلظت کمتر از ۱۰۰ گرم در هر میلی‌لیتر آن را به‌عنوان یک ماده ضد میکروب معرفی می‌کند، شاید بتوان آلکالوئیدهای این گیاه را عامل مؤثری بر میکروب‌ها دانست (Rios *et al*.,1988). در نتیجه با توجه به نتایج مطالعه حاضر می‌توان گفت که عصاره اسپند، تاثیر ضدمیکروبی خوبی دارا می‌باشد.

در مطالعه فضلی بزاز و همکاران (۱۹۹٦) بیشترین تأثیر دود اسپند بر *اشریشیا کلی* و *کاندیدا آلبیکنس* مشاهده شد. در مقام دوم و سوم از لحاظ تاثیر دود اسپند به ترتیب، *میکروکوکوس لوتئوس* و *استافیلوکوکوس اورئوس* قرار داشته اند. کمترین تاثیر دود اسپند بر *پسودوموناس آئروجینوزا* در مقام چهارم دیده شد.در مجموع نتایج این تحقیق نشان داد آلکالوئیدها و دود اثرات ضد میکروبی خوبی به خصوص روی باکتری‌های گرم مثبت داشتند (Fazlibazaz *et al*., 1996). در مطالعه حاضر نیز عصاره گیاه اسپند به خوبی توانست رشد باکتری *لیستریا مونوسیتوژنز* را مهار نماید.

با توجه به اثرات خوب ضدباکتریایی گیاه اسپند که در این مطالعه مشاهده گردید، می‌توان نتیجه‌گیری نمود که عصاره متانولی اسپند دارای اثرات مهارکنندگی رشد بر روی باکتری‌های مهم بیماری‌زای منتقله از مواد غذایی می‌باشد. بنابراین با توجه به اثرات خوب

Archive of SID
www.SID.ir

ضدباکتریایی مشاهده شده از عصاره اسپند، می‌توان از آن به‌عنوان یکی از اجزای فرمولاسیون محلول‌های شستشو و ضدعفونی مواد غذایی قبل از مصرف، شستشو و ضدعفونی ظروف و تجهیزات استفاده نمود.

منابع

- دیبا، کامبیز؛ گرامی شعار، محسن؛ شربت خوری، میترا و حسینپور، لیلی (۱۳۸۸). بررسی میزان مهارکنندگی عصاره الکلی دانه گیاه اسپند *Peganum harmala* بر روی گونه‌های کاندیدا و آسپرژیلوس در شرایط آزمایشگاهی. مجله پزشکی ارومیه، دوره ۲۰ ، شماره ٤، صفحات: ۲۷۱-۲۷۷.
- صفاهانی، علیرضا؛ عطائی، مهرداد؛ ربیعی، محمد؛ دادگر، تینا و قائمی عزت‌الله (۱۳۸۹). مقایسه فعالیت ضد میکروبی عصاره اتانولی، آبی و جوشانده تعدادی گیاهان دارویی استان گلستان علیه فعالیت باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس*. فصلنامه داروهای گیاهی، جلد اول، صفحات: ٤١-٥١ .
- فضلی بزاز، بی بی صدیقه؛ محمدی، علی‌محمد و ثابتی نوقابی، زهرا (۱۳۷٦). بررسی اثرات ضد میکروبی دود و آلکالوئیدهای گیاه اسپند. دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد.
- میرحیدر، حسن (۱۳۷۲). فرهنگ گیاهی. جهاد دانشگاهی تهران، جلد ۵. صفحات: ۲۸۰-۲۸٦.
- هاشمی، علی؛ شمس، سعید؛ براتی، محمد و صمدانی عزیزه (۱۳۹۰). بررسی اثر ضد باکتریایی عصاره متانولی گیاهان آویشن شیرازی، مورد و اسپند برروی سوش‌های استاندارد و ایزوله‌های بالینی *پسودوموناس آئروژینوزا* حاوی بتالاکتاماز با طیف وسیع. مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اراک، سال ١٤، شماره ٤ (شماره پیاپی ۵۷)، صفحات: ١٠٤-١١٢.
- Abdel-Fattah, A.F.M., Matsumoto, K. and Murakami, Y. (1997). Central Serotonin Level-Dependent Changes in Body Temperature Following Administration of Tryptophan to Pargyline and Harmaline-Pretreated Rats. Gene Pharmacology, 28: 405-409.
- Chandrasekaran, M. and Venkatesalu, V. (2004). Antibacterial and antifungal activity of Syzygium jambolanum seeds. Journal of Ethnopharmacology, 91: 105-108.
- Darabpour, E., Poshtkouhian Bavi, A., Motamedi, H. and Seyyed Nejad, S.M. (2011). Antibacterial Activity of Different Parts of Peganum Harmala L. Growing In Iran Against Multi-Drug Resistant Bacteria. EXCLI Journal, 10: 252-263.
- De Valk, H., Jacquet, C., Goulet, V., Vaillant, V., Perra, A., Simon, F., *et al*. (2005). Surveillance of Listeria infections in Europe. Eurosurveillance, 10: 251-255.
- Ekhaise, F.O., Soroh, A.E. and Falodun, A. (2010). Antibacterial properties and preliminary phytochemical Analysis of methanolic extract of ocimum gratissium (scent Leaves). Bayero Journal of Pure and Applied Sciences, 3(2): 81-83.
- El-Bahri, L. and Chemli, R. (1991). Peganum harmala L: a poisonous plant of North African. Veterinary and human toxicology, 33: 276-277.
- El-Rifaie, S. (1980). Peganum Harmala: Its Use in Certain Dermatoses. Inational journal of dermatology, 19: 221-222.

www.SID.ir

- Foley, S.L. and Lynne, A.M. (2008). Food animal-associated Salmonella challenges: pathogenicity and antimicrobial resistance. Journal of animal science, 86: 173-187.
- Food and Drug administration (FDA), (2001). Foodborne Pathogenic Microorganisms and Natural Toxins Handbook.
- Frison, G., Favretto, D., Zancanaro, F., Fazzin, G. and Ferrara, S.D. (2008). A case of b-carboline alkaloid intoxication following ingestion of Peganum harmala seed extract. Forensic Science International, 179: 37-43.
- Hashem, M. (2011). Antifungal Properties of Crude Extracts of Five Egyptian Medicinal Plants Against Dermatophytes and Emerging Fungi. Mycopathologia, 172: 37-46.
- Hayet, E., Maha, M., Mata, M., Mighri, Z., Laurent, G. and Mahjoub, A. (2010). Biological activities of Peganum harmala leaves. African Journal of Biotechnology, 9(48): 8199-8205.
- Herikstad, H., Motarjemi, Y. and Tauxe, R.V. (2002). Salmonella surveillance: a global survey of public health serotyping. Epidemiology and infection, 129: 1-8.
- Herraiz, T., Gonzalez, D., Ancin-Apilicueta, C., Aran, V.J. and Guillen, H. (2010). Beta-Carboline alkaloids in Pegannum harmala and inhibition of human monoamine oxidase (MAO). Food and Chemical Toxicology, 48(3): 839-845.
- Kordali, S., Kotan, R. and Mavi, A., (2005). Determination of the chemical composition and antioxidant activity of the essential oil of Artemisia dracunculus and A. annual Journal of Agricultural and food chemistry, 30, 53(24): 9452-9458.
- Food and Drug Administration (FDA), (2012). Lampel, K.A. (Editor), Bad Bug Book, *Foodborne Pathogenic Microorganisms and Natural Toxins Handbook*, Chapter 15, Available at: http://www.cfsan.fda.gov/~mow/chap15.html (accessed December 18, 2009)
- Mahdavi, M. and Masoud, J. (2002). Scolicidal effect of alcoholic, aqueous and total alkaloids of peganum harmala l. (syrian rue) against hydatid cysts protoscolices. Tehran University Medical Journal (TUMJ), 60(3): 215-226.
- Mahmoudian, M., Jalilpour, H. and Salehian, P. (2002). Toxicity of Peganum Harmala: Review and a Case Report. Iranian Journal of Pharmacology & Therapeutics, 1: 1-4.
- Mazandarani, M., Yassaghi, S., Rezaei, M.B. and Ghaemi, E.A. (2007). Ethnobotany and antibacterial activity from essential oil of two endemic Hypericum species in North of Iran. Asian Journal of Plant Sciences, 6(2): 354-358.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically, 12th Ed.; 2012. Approved Standard M7-A6.
- Nenaah, G. (2010). Antibacterial and antifungal activities of (beta)-carboline alkaloids of Peganum harmala (L) seeds and their combination effects. Fitoterapia, 81: 779-782.
- O'Brien, A.D. (1998). Escherichia coli O157:H7 and Other Shiga-Toxin Producing E. coli Strains. ASM Press, Washington, DC, USA.
- Oussalah, M.C.S. and Saucier, L.M.L. (2007). Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: *E. coli* O157:H7, Salmonella Typhimurium, Staphylococcus aureus and Listeria monocytogenes. Food Control, 18: 414-420.
- Prashanth, D. and John, S. (1999). Antibacterial activity of Peganum harmala. Fitoterapia, 70: 438-439.
- Rios, J.L., Recio, M.C. and Ilar, A., (1988). Screening methods for natural product with antimicrobial activity: A review of the literature, Journal of Ethnopharmacology, 23: 127-149.
- Shahverdi, A.R., Ostad, S.N., Khodaee, S., Bitarafan, L., Monsef-Esfahani, H.R., Jamalifar, H., *et al*. (2008). Antimicrobial and cytotoxicity potential of Peganum harmala smoke. Pharmacognosy Magazine, 4(15): 236-240.
- Tesh, V.L. and O'Brien, A.D. (1991). The pathogenic mechanisms of Shiga toxin and Shiga-like toxin. Molecular microbiology, 59: 1817-1822.

Archive of SID

www.SID.ir

- Valero, A., Rodríguez, M., Carrasco, E., Pérez-Rodríguez, F., García-Gimeno, R.M. and Zurera, G. (2010). Studying the growth boundary and subsequent time to growth of pathogenic Escherichia coli serotypes by turbidity measurements. Food Microbiology, 27: 819-828.

Archive of SID

www.SID.ir