Archive of SID

مطالعه اثر ضد باکتریایی و سینرژیستی عصاره گیاه انگشتانه (*Digitalis nervosa*) و آنتی بیوتیک سیپروفلوکساسین بر *استافیلوکوکوس اورئوس*

لیلی ایوبی نژاد[1*]، حمید نظری[1]، علی محمدی ثانی[2]

۱. دانش آموخته کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، واحد قوچان، دانشگاه آزاد اسلامی، قوچان، ایران.

۲. گروه علوم و صنایع غذایی، واحد قوچان، دانشگاه آزاد اسلامی، قوچان، ایران.

***نویسنده مسئول:** *leily.ayoubinejad@gmail.com*

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۰۹/۲۸ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۰۱/۲۰

چکیده

علی رغم پیشرفتهای نوین در روشهای تهیه و تولید موادغذایی، سلامت و ایمنی مصرف کننده به طور روز افزون در بهداشت عمومی اهمیت می‌یابد . یکی از روشهای کنترل میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا استفاده از نگهدارنده‌های شیمیایی است. این مطالعه به‌منظور تعیین اثرات ضد باکتریایی عصاره اتانولی گیاه انگشتانه روی باکتری پاتوژن استافیلوکوکوس *اورئوس* در مواد غذایی می‌باشد. در این مطالعه اثر ضد باکتریایی عصاره اتانولی به تنهایی و همچنین توام با آنتی بیوتیک سیپروفلوکساسین بر باکتری گرم مثبت، *استافیلوکوکوس اورئوس* (ATCC25923)، به روش براث میکرودیلوشن مورد ارزیابی قرار گرفت. حداقل غلظت بازدارندگی برای عصاره گیاه انگشتانه و آنتی بیوتیک سیپروفلوکساسین به ترتیب ۴/۹ mg/ml و۰/۵ µg/ml تعیین گردید، تاثیر توام آنتی بیوتیک و عصاره نشان داد که رشد باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* در استفاده همزمان از ۳/۵ mg/ml عصاره و۰/۲۸ µg/mlآنتی بیوتیک مهار شد. پس از بررسی نتایج آزمون، حداقل غلظت کشندگی برای عصاره ۷/۱ mg/ml و برای آنتی بیوتیک ۱ µg/ml اندازه گیری شد و استفاده همزمان از ۱ mg/ml عصاره و ۰/۱۴ µg/ml آنتی بیوتیک موجب از بین رفتن باکتری گردید. نتایج این مطالعه نشان داد که استفاده همزمان از عصاره الکلی و آنتی بیوتیک، موجب کاهش ۴۸ درصدی مصرف آنتی بیوتیک برای مهار رشد باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* گردید و استفاده توام از عصاره الکلی و آنتی بیوتیک، باعث کاهش ۸۶ درصدی مصرف آنتی بیوتیک در حداقل غلظت کشندگی برای باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* شد.

واژگان کلیدی: عصاره اتانولی، اثر ضد میکروبی، انگشتانه، سیپروفلوکساسین، اثر سینرژیستی.

مقدمه

تغییرات اقتصادی و اجتماعی نوین به همراه تجارت بین المللی غذا در سطح جهانی خطر بروز بسیاری از بیماری‌های ناشی از مواد غذایی را بیش از پیش مطرح ساخته است و در این راستا دستیابی به غذای سالم هم گام با ماندگاری بالا، لزوم استفاده از نگه دارنده‌های غذایی را خاطر نشان می‌سازد. در سالیان اخیر با توجه به اثرات مضر نگه دارنده‌های غذایی شیمیایی و سنتتیک، مصرف کنندگان و تولید کنندگان مواد غذایی، خواهان استفاده از نگه‌دارنده‌های طبیعی نظیر عصاره‌های گیاهی هستند که علاوه بر افزایش زمان ماندگاری غذا (به واسطه خواص ضدمیکروبی آن) از اثرات مضر نگه دارنده‌های شیمیایی در امان باشند (Negi and Bisht, 2005). باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* از دلایل عوامل ایجاد عفونت‌های غذایی است. عفونت‌های بیمارستانی استافیلوکوکی به سختی قابل درمان هستند زیرا گونه‌های این باکتری در مقابل بیشتر آنتی بیوتیک‌های بالینی مقاوم هستند. برای بیشتر گونه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس*، داروهای گونه گلیکوپپتید مانند ونکومایسین[1]، تنها گونه‌های آنتی بیوتیک موثر است. اما مقاومت ونکومایسین هم گزارش شده است. بنابراین، یافتن عوامل ضدباکتریایی یا راههای جدیدی که برای درمان عفونت باکتریایی مانند عفونت با *استافیلوکوکوس* موثر باشد، بسیار مهم است (Zahraei-Salehi et al., 2005). گیاه دارویی گل انگشتانه با اسم جنس *Digitalis* و نام متداول

1 Vancomycin

www.SID.ir

Archive of SID

Foxglove، با توجه به داشتن ترکیبات گلیکوزیدی خاصیت تقویت کنندگی قلب و عروق و ضدسرطانی دارد (Bruelheide et al., 2002). برگ‌های این گیاه غنی از گلیکوزیدهای کاردیوتونیک است. در کنار هتروزیدهای کاردیاک، ترکیبات شیمیایی مانند ساپونین ها، فلاوون ها، اسیدهای اورگانیک، لیپیدها، تانن ها و موسیلاژها نیز در این گیاه وجود دارد. در حال حاضر صنایع داروسازی برخی کشورهای غربی از مواد موثره‌ی برگ خشک شده این گیاه داروهایی به نام ایزولانید و کاردینوکسین تولید و به بازار دارویی عرضه می کنند (Sampath, 2010). نظر به اینکه گیاهان دارویی در کشور ما پراکندگی وسیعی دارند، مطالعات روی این گیاهان از نظر خواص ضدمیکروبی آنها زمینه مناسبی را فراهم می کند که از نتایج این بررسی ها جهت استفاده از این گیاهان به عنوان نگهدارنده طبیعی و بیولوژک و از جهتی جایگزین نمودن داروهایی با منشاء طبیعی برای کنترل و درمان عفونت‌های باکتریایی استفاده نمود و این امر می تواند موجب کاهش مصرف نگهدارنده‌های شیمیایی و عوارض ناشی از آن گردد (Saffari et al., 2012). با توجه به کاربردهای ذکر شده و امکان استفاده مفید آن به صورت صنعتی و غذایی، و برای درک مناسب از اثرات این گیاه، در این مطالعه فعالیت ضد باکتریایی عصاره این گیاه به عنوان یک ماده نگهدارنده در مواد غذایی در کنار بررسی اثر سینرژیستی عصاره الکلی این گیاه با آنتی بیوتیک سیپروفلوکساسین مورد بررسی قرار گرفت، در ضمن میزان کاهش مصرف آنتی بیوتیک سیپروفلوکساسین در صورت استفاده همزمان با عصاره اتانولی گیاه انگشتانه محاسبه شد.

مواد و روش کار

تهیه گیاه

گیاه گل انگشتانه از حوالی شهر قوچان در اواسط فصل بهار جمع آوری شد. اصالت این گیاه توسط مرکز تحقیقات فارماکولوژیک گیاهان دارویی مشهد تایید شد.

استخراج عصاره

بذرهای گیاه در سایه خشک شد و سپس، آسیاب شده و به صورت پودر درآمد. پودر انگشتانه در الکل اتانول ۹۶درصد به مدت ۲۴ ساعت خیسانده شد. سپس توسط قیف بوخنر صاف گردید. محلول به دست آمده در دستگاه تقطیر در خلاء قرار داده شد تا حلال آن در دمای ۳۵ درجه تبخیر گردد. در آخر محلول در شیشه ساعت ریخته و در انکوباتور با دمای ۴۰درجه قرار گرفت و پس از خشک شدن، عصاره وزن شد. از ۱۰۰ گرم گیاه انگشتانه ۱۵ گرم پودر عصاره به دست آمد (Das et al., 2008). باکتری‌های مورد استفاده

باکتری استاندارد *استافیلوکوکوس اورئوس* 25923 ATCCاز آزمایشگاه رفرانس میکروب شناسی تهیه و در فریزر ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری شد. یک کلون از هر سوش در محیط کشت‌های مغز و قلب مایع [1]و مغز و قلب جامد [2] مورد آزمایش های شناسایی قرار گرفت. سوش مورد استفاده عبارت بود از.

تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC[3])

حداقل غلظت بازدارندگی بر اساس روش میکروبراث دیلوشن[4] تعیین گردید (Al-bayati, 2008). آنتی بیوتیک در یک ردیف از میکروپلیت در دامنه غلظت نهایی ۴ - ۰/۰۱ میکروگرم بر میلی لیتر اضافه شد. در ادامه از عصاره اتانولی نیز غلظت نهایی ۵/۸ – ۰/۳۴ میلی‌گرم بر میلی لیتر در چاهک‌های فوق به طور توام تهیه شد به طوری که مجموع عصاره و آنتی بیوتیک ۷۰ میکرولیتر شد. در ردیف دوم عصاره فاقد آنتی بیوتیک با رقت‌های فوق تهیه شد و سپس حجم با سرم فیزیولوژی به ۷۰ میکرولیتر رسانده شد. در ردیف سوم آنتی بیوتیک فاقد عصاره در غلظت‌های فوق تهیه شد.

1 Brain Heart Infusion Broth (BHI Broth)
2 Brain Heart Infusion Agar (BHI Agar)
3 Minimum inhibitory concentration
4 Micro broth dilution

www.SID.ir

Archive of SID

در ادامه ۷۰ میکرولیتر سوسپانسیون میکروبی با شمارش 10^7 CFU/ml اضافه گردید و سپس میکروپلیت در دمای ۳۷ درجه به مدت ۲۴ ساعت انکوباسیون گذاری شد. بعد از انکوباسیون به وسیله پایه پلیت که به همین منظور ساخته شده، کف پلیت زیر نور در آینه مشاهده شد.

وجود کدورت که نشان دهنده رشد یا عدم رشد باکتری بود مورد بررسی قرار گرفت. طبق تعریف کمترین غلظتی که هیچ کدورتی در آن ایجاد نشده بود، معادل MIC قرار داده شد.

ابتدا به چاهکهای مورد آزمون ۷۰ میکرولیتر محیط کشت مغز و قلب مایع وارد شد سپس به اولین چاهک هرردیف ۲۰ میکرو لیتر عصاره اضافه گردید و رقیق سازی صورت گرفت، بطوری که غلظت نهایی عصاره بین ۲۰ تا ۰/۸ میلی گرم بر میلی لیتر به ترتیب در دوازده چاهک ایجاد شود. در ردیف دیگری هم از آنتی بیوتیک غلظت ۰/۰۱-۳۳ میکروگرم بر میلی لیتر متناسب با طیف غلظت تاثیر گذار بر باکتری اضافه شد. درآخر به همه چاهکها ۷۰ میکرولیتر سوسپانسیون میکروبی رقیق شده اضافه گردید. به عنوان کنترل مثبت، یک ردیف حاوی محیط کشت، سوسپانسیون باکتری و فاقد عصاره مورد آزمون قرار گرفت. به عنوان کنترل منفی، ردیف حاوی عصاره، محیط کشت و فاقد سوسپانسیون باکتری استفاده شد.

تعیین حداقل غلظت کشندگی (MBC)

برای آزمایش MBC همه چاهکهای فاقد کدورت جداگانه بر روی محیط مغز و قلب جامد کشت داده شد. پس از ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، کمترین غلظتی از عصاره که باکتری در آن رشد نکرده بود و هیچ کلونی مشاهده نشد به عنوان MBC گزارش شد (Al-bayati, 2008).

نتایج

نتیجه آزمون‌ها درجدول ۱ آورده شده است. بررسی نتایج آزمون تاثیر توام آنتی بیوتیک و عصاره نشان داد که رشد باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* در استفاده همزمان از ۳/۵ میلی گرم بر میلی لیتر عصاره و ۰/۲۸ میکروگرم بر میلی لیتر آنتی بیوتیک مهار شد، که نشان می دهد استفاده همزمان از آنتی بیوتیک و عصاره ۴۸ درصد میزان مصرف آنتی بیوتیک را کاهش داده است. نتایج آزمون تعیین MBC نیز نشان می‌دهد که استفاده همزمان از ۴/۲ میلی گرم بر میلی لیتر عصاره و ۰/۱۴ میکروگرم بر میلی لیتر آنتی بیوتیک موجب از بین رفتن باکتری می‌گردد، که این میزان مصرف آنتی بیوتیک ۸۶ درصد کمتر از میزان مصرف آنتی بیوتیک به تنهایی می‌باشد.

جدول ۱- تعیین اثر سینرژیستی عصاره الکلی و آنتی بیوتیک بر روی باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس*

MBC	MIC	
۴/۲ میلی گرم بر میلی لیتر عصاره	۳/۵ میلی گرم بر میلی لیتر عصاره	ترکیب عصاره بعلاوه آنتی بیوتیک
بعلاوه ۰/۱۴ میکروگرم بر میلی لیتر آنتی بیوتیک	بعلاوه ۰/۲۸ میکروگرم بر میلی لیتر آنتی بیوتیک	
۱ میکروگرم بر میلی لیتر	۰/۵ میکروگرم بر میلی لیتر	آنتی بیوتیک فاقد عصاره
۷/۱ میلی گرم بر میلی لیتر	۴/۹ میلی گرم بر میلی لیتر	عصاره فاقد آنتی بیوتیک

بحث

علاوه بر کاربردهای گسترده گیاهان دارویی در طب سنتی و مصارف صنعتی و خوراکی و یا استفاده از آنها به عنوان چاشنی، طعم دهنده و حتی نگهدارنده، امروزه توجه خاصی به این گیاهان و مشتقات آنها به منظور استفاده‌های درمانی و مکمل‌های درمانی در بیماری-های مختلف شده است. جستجو برای کشف عوامل

www.SID.ir

Archive of SID

ضدمیکروبی سالم و موثر ادامه دارد که می‌تواند هم از لحاظ درمانی و هم از لحاظ پیشگیری، در مورد طیف وسیعی از عفونت‌های باکتریایی استفاده شود. این نیاز در سال‌های اخیر با ظهور میکروارگانیسم‌های مقاوم به چند دارو نمایان تر شده است. بنابراین علم، درحال حاضر به دنبال مکمل‌های جایگزین از سایر منابع از جمله گیاهان هستند، زیرا مشخص شده گیاهان دارویی موادی با فعالیت ضد میکروبی تولید می‌کنند. درباره اثر ضدمیکروبی عصاره گیاه انگشتانه گزارش هایی صورت گرفته است. در مطالعه انجام شده توسط Benli و همکاران (۲۰۰۸) اثر ضدمیکروبی عصاره متانولی برگ و گل گیاه *Digitalis lamarckii ivan* گونه بومی کشور ترکیه بر روی ده باکتری و چهار سویه مخمر آزمایش شد. وجود اثر ضدباکتریایی در چهار گونه باکتریایی تشخیص داده شد. آزمایش MIC با محیط کشت مایع در همه چهار گونه انجام شد و عدد آن ۱۹۹/۵< میلی گرم بر میلی لیتر شد. حداقل غلظت مهارکنندگی(MIC) برای *باسیلوس سوبتیلیس*[1] ، *استافیلوکوکوس اورئوس*[2]، *لیستریامونوسیتوژنز*[3]، ۱۹۹/۵< میلی گرم بر میلی لیتر محاسبه شد و MBC برای شیگلا[4]، ۳۹۹< میلی گرم بر میلی لیتر محاسبه شد. برگ‌های این گیاه منبع غنی از گلیکوزیدهای کاردیوتونیک است. در کنار هتروزیدهای کاردیاک، ترکیبات شیمیایی مانند ساپونین ها، فلاوون ها، اسیدهای اورگانیک، لیپیدها، تانن ها و موسیلاژها نیز در این گیاه وجود دارد (Naivy et al., 2009). تانن ها دارای ترکیبات شیمیایی مختلفی هستند، این ترکیبات دارای خواص مشترک زیادی از جمله توانایی انعقاد آلبومن ها، فلزات سنگین و آلکالوئیدها می باشند. خاصیت ضد میکروبی این ترکیبات در مقابله باکتری *سالمونلا انتریکا*[5] در گیاه بلوط اثبات شده است.

1 *Bacillus subtilis*
2 *Staphylococcus aureus*
3 *Listeria monocytogenes*
4 Shigella
5 *Salmonella enterica*

ساپونین ها در بسیاری از گیاهان دارویی وجود دارند خاصیت اصلی آنها کاهش فشار سطحی آب است و در مقابله با باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* تحقیقات وسیعی روی آن انجام شده است و خاصیت آنتی باکتریایی آن در برابر این باکتری در گیاه درخت زبان گنجشک تایید شده است (امیری و همکاران، ۱۳۸۴). خاصیت آنتی اکسیدانی برگ و ریشه گیاه نوروزک نیز درارتباط با حضور متابولیت ثانویه‌ای از نوع شالکون‌ها به نام بوتئین است. شالکون‌ها گروهی از متابولیت‌های ثانویه گیاهی و پیش ساز طبیعی فلاونوئیدها هستند که فعالیت‌های ضد التهابی، ضد باکتریایی، ضد قارچی و ضدسرطانی آنها مشخص شده است (Hadad Khodaparast et al., 2006). در مطالعه صورت گرفته توسط Sharma (۲۰۰۹) اثر گلیکوزید موجود در برگ *Digitalis lanata* بر روی باکتری *Agrobacterium tumefaciens* مورد بررسی قرار گرفت و اثر ضد میکروبی آن تایید شد. در مطالعه دیگر که بر روی اثرات آنتی باکتریال تیموکینون و تیموهیدروکینون سیاه دانه انجام شد، ثابت شد که این ترکیبات خاصیت آنتی باکتریال و اثرات مختلف سینرژیستی[6]، آنا گونیستی[7] یا بی اثر را بر روی برخی آنتی بیوتیک ها از جمله آمپی سیلین ۸و جنتامایسین۹ از خود نشان داده اند. در این مطالعه اثر اثر توام (سینرژیستی) ضدمیکروبی عصاره و آنتی بیوتیک بررسی شد (Suresh Kumar et al., 2010). تحقیقات زیادی درباره اثر سینرژیستی عصاره و آنتی بیوتیک انجام شده است. به عنوان مثال Betoni و همکاران (۲۰۰۶) خاصیت ضد باکتری گیاهان طبی برزیلی و هشت آنتی بیوتیک را بررسی کردند. همچنین Sibanda و Okoh (۲۰۰۸) خاصیت ضد میکروبی ترکیب عصاره اتانولی دانه کاری با آنتی بیوتیک‌های

6 Synergistic
7 Antagonist
8 Ampicillin
9 Gentamicin

www.SID.ir

Archive of SID

آموکسی سیلین[1]، سیپروفلوکساسین و تتراسایکلین[2] را را آزمایش کردند. نتایج، نشان دهنده افزایش فعالیت بیولوژیکی عصاره بود. در مقایسه با کاربرد آنتی بیوتیک خالص که مضرات فراوانی در موادغذایی و برای مصرف کننده ایجاد می‌کند، استفاده همزمان از عصاره الکلی و آنتی بیوتیک، موجب کاهش ۴۸ درصدی مصرف آنتی بیوتیک برای مهار رشد باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* گردید و استفاده توام از عصاره الکلی و آنتی بیوتیک، باعث کاهش ۸۶ درصدی مصرف آنتی بیوتیک در حداقل غلظت کشندگی برای باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* شد. بنابراین بیشترین اثر سینرژیستی عصاره در حداقل میزان کشندگی مشاهده شد. اهمیت این موضوع از آنجا مشخص می گردد که این ترکیب گیاهی به طور گسترده به عنوان ماده اولیه در صنایع داروسازی مورد استفاده قرار می گیرد، از سوی دیگر شناخت مناسب و دقیق تر این برهم کنش میتواند به عنوان یک راهکار مفیدتر درمانی به ویژه درمورد عفونت‌های میکروبی مورد بهره برداری قرار گیرد. در مجموع عصاره اتانولی گیاه انگشتانه موجب افزایش اثر سیپروفلوکساسین برضد باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* مورد آزمایش شد. از آنجایی که مقاومت باکتریایی درحال افزایش است و انتقال مقاومت از باکتری‌های مقاوم به باکتری‌های حساس از طرق مختلف به آسانی صورت میگیرد و موجب مقاومت در برابر آنتی بیوتیک‌های مصرفی معمول میگردد، لذا عصاره گیاه انگشتانه همچون دیگر مشتقات گیاهان دارویی با خواص آنتی باکتریال میتواند به عنوان ترکیب جایگزین و یا مکمل در درمان عفونت‌های باکتریایی به کار رود. در حال حاضر یکی از عمده مشکلاتی که در درمان عفونت ها و استفاده از آنتی بیوتیک ها مطرح می باشد ایجاد مقاومت آنتی بیوتیکی است که توجه خاصی را برای حل این مشکل می طلبد. مواد تشکیل دهنده گیاهان دارویی می تواند در بازگشت حساسیت باکتری ها به آنتی بیوتیک هایی که در شرایط فعلی به دلیل مقاومت دارویی قابلیت‌های درمانی خود را از دست داده اند، موثر باشد. مکانیسم عمل نگهدارنده‌های طبیعی به طور کامل هنوز شناخته نشده است، با این وجود فرایند هایی نظیر اختلال در غشاء توسط ترپنوئید ها و فنولیک ها، چلاته کردن آهن[3] توسط فنول ها و فلاونوئید ها و اثر کومارین و آلکالوئید ها بر روی مواد ژنتیکی میکروارگانیسم ها می تواند تاثیر گذار باشند (Cowan, 1999). اهداف دقیق مواد ضد میکروبی طبیعی اغلب شناخته شده نیست و بسیار دشوار است تا یک سایت خاص را به عنوان محل عمل واکنش‌های ضد میکروبی معرفی کرد. مشاهده شده است که این مواد می‌توانند از طریق اختلال در غشاء سلولی باعث نشت محتویات سلول به خارج از سلول گردند و یا موجب اختلال در انتقالات غشایی یا آنزیم‌های متابولیکی و یا اسراف انرژی به صورت ATP گردند (Davidson, 2001).

نتیجه گیری

عصاره گیاه انگشتانه دارای اثر ضد باکتریایی است که در مورد سوش‌های مختلف اثرات متفاوتی دارد و این مطالعه امکان استفاده از عصاره گیاه انگشتانه را به عنوان یک ماده آنتی باکتریال مطرح می‌نماید. با وجود اینکه نتایج حاصل از این پژوهش حاکی از تاثیرات ضد باکتریایی این عصاره بر روی باکتری مورد نظر می‌باشد اما با این حال برای کاربردی شدن این عصاره در صنعت غذا نیاز به انجام آزمون‌های دیگری از جمله آزمون‌های رئولوژیکی می‌باشد. همچنین این عصاره دارای اثر سینرژیستی با آنتی بیوتیک سیپروفلوکساسین است و می‌تواند اثر این دارو را افزایش دهد و امکان استفاده از آن را به عنوان مکمل دارویی مطرح می نماید.

1 Amoxicillin
2 Tetracycline

3 Metal chelation

www.SID.ir

Archive of SID

منابع

۱. امیری، حمزه.، خاوری نژاد، رمضانعلی.، روستائیان، عبدالحسین. (۱۳۸۴). شناسایی مواد متشکله موجود در اسانس و مطالعه آناتومیکی ساختار ترشح کننده اسانس گیاه Boiss *smyrnium cordifolium*. پژوهش و سازندگی. شماره ۷۴. ص ۱۶-۱۱.

2. Al-bayati, FA. 2008. Synergistic antibacterial activity between *Thymus vulgaris* and *Pimpinella anisum* essential oils and methanol extracts. J Ethnopharmaco. 116: 403-406.
3. Benli, M., Nazif, Y., Fatmagu, G., Kerim, G., and Umit B. 2008. Antimicrobial Activity of Endemic *Digitalis lamarckii Ivan* from Turkey. Indian J Exp Biol. 47: 218-221.
4. Betoni J.E.C., Mantovani R.P, Barbosa L.N, Di Stasi L.C, Fernandes Junior A, 2006. Synergism between plant extract and antimicrobial drugs used on *staphylococcus aureus* diseases. Mem Inst Oswaldo Cruz 101: 387-390.
5. Bruelheide, H., and Heineneyer A. 2002. Climatic Factors Controlling the Eastern and Altitudinal Distribution Boundary of *Digitalis purpurea* in Germany. I J Flor. 197: 475-490.
6. Cowan, M.M. 1999. Plant products as antimicrobial agents. J Clin Microbiol Rev. 12, 564 –582.
7. Das, S., Anjeza, C., and Mandal, S. 2012. Synergistic or additive antimicrobial activities of Indian spice and herbal extracts against pathogenic, probiotic and food-spoiler microorganisms. Int J Food Res. 19(3): 1185-1191.
8. Davidson, P.M. 2001. Chemical preservatives and natural antimicrobial compounds, In: Doyle, M.P., Beuchat, L.R., Montville, T.J. (Eds.), Food Microbiology: Fundamental and Frontiers, 2nd ed. ASM Press, Washington DC, pp. 593– 627.
9. Hadad Khodaparast, M.H., Haghdoost, A., Elhami-Rad, A.H., Movahhed, G. andKarazhiyan, H. 2006. Antioxidant activity and thermal Properties of salvia leriifolia (Norozak) root extract. Proceedings of the international conference on Innovations in Food and Bioprocess Technologies.
10. Naivy, P., Dirk, W., and Andre, G. 2009. Cardiotonic glycosides from biomass of Digitalis purpurea L.cultured in temporary immersion systems. J Plant Cell Tiss Organ Cult. 99: 151–156.
11. Negi, J.S., and Bisht,A.K. 2005. Determination of Mineral Content of *Digitalis purpurea l.*and *Digitalis lanata* Ehrh**.** J Soil Sci Plant Nutr. 3: 12-15.
12. Saffari, H., Saffari, M., Arj, A., and Haghir-Ebrahim-Abadi, A. 2012. Comparing the antimicrobial properties of pomegranate seed and peel extract with common antibiotics used on *helicobacter pylori.* KAUMS J. 16(5): 426-432.
13. Sampath, KP. 2010. Traditional herbal drugs: Digitalis and Its Health Benefits. Int Pharm Boimed Sci. 1(1): 16-20.
14. Sharma A. 2009. Energy in commerically available ultra-diluted natural cardiotropic drug Digitalis Purpurea: An uv spectroscopic study. Res J Pharmacol 3: 58-62.
15. Sibanda T, Okoh A.I.2008. In vitro evaluation of the interactions between acetone extracts of Garcinia Kola seeds and some antibiotics. Afr J Biotechnol 7: 1672-1678.
16. Suresh Kumar T.V., Negi P.S., Udaya Sankar K. 2010. Antibacterial Activity of Nigella sativa L. Seed Extracts. Br J Pharm Toxicol. 1: 96-100.
17. Zahraei-Salehi, T., Vojgani, M., Bayat, M., Torshizi, H., and Akhondzadeh, A. 2005. Determination of minimum inhibitory concentration (MIC) of extract of *Zataria multiflora* against the *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae* and *E. coli*. Iran J Vet Res. 60: 107-110.

www.SID.ir

Archive of SID

Study of antibacterial and synergistic effect of *Digitalis nervosa* extract and ciprofloxacin on *Staphylococcus aureus*

Ayoubinejad L[1]*, Nazari H[1], Mohammadi Sani A[2]

1. MSc Student of Food Science and Technology, Qhuchan Branch, Islamic Azad University, Qhuchan, Iran

2. Department of Food Science and Technology, Qhuchan Branch, Islamic Azad University, Qhuchan, Iran

*Corresponding author: *leily.ayoubinejad@gmail.com*

Received: 2015.11.19 Accepted: 2016.04.08

Abstract

In spite of novel progresses in the methods for foodstuff's preparation and production, consumer's health and safety in the public hygiene import increasingly. One of the ways to control pathogenic microorganisms is the use of chemical preservatives in food. This study was done for determining antibacterial effects of *Digitalis nervosa* extracts on *Staphylococcus aureus* pathogenic bacteria. In this study the antibacterial effects of ethanolic extract of *D. nervosa* alone and in combination with Ciprofloxacin were evaluated on gram-positive bacteria, *S. aureus* (ATCC25923), by micro broth dilution method. MIC test results for *D. nervosa* extract and Ciprofloxacin were 4.9 and 0.5 µg/ml, respectively. Combined effects of antibiotic and the extract revealed that *S. aureus* was inhibited by the ethanolic extract and Ciprofloxacin respectively at 3.5 and 0.28 µg/ml. MBC were measured 7.1 and 1 µg/ml respectively against ethanolic extract and Ciprofloxacin. Simultaneous application of the extract at 1 mg/ml and Ciprofloxacin at 0.14 µg/ml destroyed *S. aureus*. Results showed that simultaneous use of alcoholic extract and Ciprofloxacin, reduced antibiotic usage by 48% to inhibit *S. aureus* and also the concomitant use of alcoholic extract and antibiotic, caused 86% reduction in antibiotic use to reach MBC point against *S. aureus*.

Keywords: Ethanol extract, antibacterial, *Digitalis nervosa*, Ciprofloxacin, synergistic effect.

www.SID.ir