

## اثر ضدباکتریایی عصاره متانولی و اسانس گل های بومادران بر باکتری های بیماری زا

مریم محمدی سیجانی<sup>۱</sup>، لیلا امجد<sup>۲</sup>، مرضیه محمدی کمال آبادی<sup>۳</sup>

تاریخ دریافت مقاله: ۸۹/۴/۲۳

تاریخ پذیرش مقاله: ۸۹/۶/۲

۱. مربی میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان

۲. استادیار زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان

۳. کارشناس میکروبیولوژی، باشگاه پژوهشگران جوان، دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان

### چکیده

**زمینه و هدف:** جایگاه گیاهان دارویی در طب سنتی کشور ما و منابع غنی گیاهی در دسترس از یک سو و مشکلات موجود در درمان عفونت های ناشی از سویه های مقاوم میکروبی از سوی دیگر عاملی برای بررسی دقیق تر داروهای گیاهی بوده است. بومادران گیاهی دارویی است که در طب سنتی کاربردهای گوناگونی دارد. هدف از این مطالعه بررسی اثر ضدباکتریایی عصاره متانولی و اسانس گل های آکیلا ویلهلمسی بر روی باکتری های گرم مثبت و گرم منفی است.

**مواد و روش کار:** در این مطالعه تجربی - آزمایشگاهی از گیاه گونه *Achillea wilhelmsii* C.Koch یکی از گونه های بومی بومادران استفاده شد. پس از تهیه عصاره متانولی گل های گیاه، اثر غلظت های ۲۰mg/ml، ۳۰mg/ml، ۵۰mg/ml و ۴۰۰mg/ml این عصاره به روش انتشار چاهک بر روی استافیلوکوکوس اورئوس، باسیلوس سرئوس، اشرشیاکلی و سودوموناس آئروژینوزا مورد بررسی قرار گرفت. آزمون تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی رشد باکتری ها و آزمون تعیین حداقل غلظت کشندگی باکتری ها به روش رقت در لوله انجام گرفت. اثرات ضدباکتریایی اسانس با روش تهیه رقت در آگار بررسی شد.

**یافته ها:** یافته ها نشان دادند که عصاره متانولی گل های آکیلا ویلهلمسی از رشد استافیلوکوکوس اورئوس، باسیلوس سرئوس و اشرشیاکلی جلوگیری می کند. غلظت مهارکننده رشد عصاره برای این باکتری ها از ۶/۲۵mg/ml تا ۲۵mg/ml تغییر می کند. غلظت ۱۰۰۰ μg/ml اسانس گل های این گیاه نیز اثر مهارکنندگی بر استافیلوکوکوس اورئوس، باسیلوس سرئوس و اشرشیاکلی نشان داد. این ترکیبات بر روی سودوموناس آئروژینوزا مؤثر نبودند.

**نتیجه گیری:** عصاره متانولی و اسانس گل های آکیلا ویلهلمسی بر رشد باکتری های بیماری زا به ویژه انواع گرم مثبت اثر مهارکنندگی قابل ملاحظه ای دارد. به منظور کاربرد بالینی این عصاره ها انجام تحقیقات بالینی ضروری است. (م ت ع پ ز ، ۱۳ (۳): ۹-۱۴]

**کلیدواژه ها:** *Achillea wilhelmsii*، بومادران، عصاره گیاهی، فعالیت ضدباکتریایی

### مقدمه

جاده ها و نواحی کوهستانی می رویند<sup>۳</sup> گل های تازه بومادران سرشار از مواد شیمیایی است که برای برطرف نمودن مشکلات تنفسی به عنوان ضد حساسیت، ضد احتقان و خلط آور استفاده می گردد. اسانس گل های آن نیز حاوی کامازولن، سینئول و بورنتول است که خواص ضدالتهابی، ضداسپاسم، ضدشوره سر، تحریک رشد مو و التیام موضعی پوست را نشان می دهد.<sup>۳،۴</sup>

خواص ضد میکروبی اسانس و عصاره های آبی و الکلی برگ، گل و میوه سایر گونه های آکیلا بر روی میکروارگانیسم های گوناگون از مناطق جغرافیایی مختلف گزارش شده است.<sup>۵</sup>

Aljancic و همکارانش در مطالعه ای در سال ۱۹۹۹ نشان دادند که گیاه بومادران در شرایط آزمایشگاهی اثر مهاری قابل ملاحظه ای بر روی کاندیدا آلیکنس و باسیلوس سوبتیلیس دارد. به عقیده ای این محققان فلاونوئیدهای موجود در عصاره بومادران علاوه بر تأثیر مهاری بر دو میکروب فوق، از رشد آسپرژیلوس نایجر نیز جلوگیری می کند.<sup>۶</sup> در تحقیقی که در سال ۲۰۰۳ توسط Sokmen و همکارانش انجام شد خاصیت ضد میکروبی اسانس و عصاره های آبی و متانولی گونه *Achillea sintenisii* بر روی ۱۲ گونه باکتری و دو مخمر به صورت مقایسه ای مورد بررسی قرار گرفت. در این پژوهش از عصاره آبی گیاه هیچ فعالیت ضد میکروبی مشاهده نشد در حالی که عصاره متانولی و اسانس آن فعالیت ضد میکروبی قابل قبولی داشتند.<sup>۸</sup>

با افزایش تعداد سویه های باکتریایی مقاوم به آنتی بیوتیک های گوناگون، تلاش های بسیاری برای استفاده از توان بالقوه خاصیت ضد میکروبی گیاهان انجام پذیرفته است. از طرف دیگر ظهور سویه های مقاوم در بین باسیل های گرم منفی و کوکسی های گرم مثبت مانند جنس های سودوموناس، کلبسیلا، انتروباکتر، استافیلوکوکوس و انتروکوکوس مشکلاتی را در درمان عفونت های ناشی از این باکتری ها به وجود آورده است.<sup>۱</sup> ترکیبات ضد میکروبی به دست آمده از گیاهان با مکانیسم هایی متفاوت از آنتی بیوتیک ها، باکتری ها را حذف می کنند که این مسئله در درمان عفونت های ناشی از سویه های مقاوم میکروبی از نظر بالینی حائز اهمیت است.<sup>۲</sup> باتوجه به رویکرد دوباره برای مصرف داروها و فرآورده های گیاهی، بررسی خواص دارویی گیاهان اندمیک هر منطقه از اهمیت خاصی برخوردار می باشد. در این مطالعه خواص ضدباکتریایی عصاره متانولی و اسانس گل های *Achillea wilhelmsii* بر تعدادی از باکتری های بیماریزا مورد بررسی قرار گرفته است. آکیلا ویلهلمسی گونه بومی ایران می باشد. نام فارسی این گیاه بومادران و نام علمی آن *Achillea wilhelmsii* C.Koch است. تاکنون ۸۵ گونه از این گیاه شناسایی شده است که ۷ گونه آن منحصراً در ایران یافت می شود. گونه های بومی گیاه بومادران با پراکندگی نسبتاً وسیعی در استان های مختلف کشورمان به صورت خودرو در دشت ها، کنار

گرفت. در روش انتشار چاهک ۵۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون میکروبی با غلظت  $1 \times 10^6$  cfu/ml در سطح محیط کشت مولر هیتون آگار به صورت یکنواخت گسترش داده شد. سپس در سطح پلیت چاهک‌هایی به قطر ۶ میلی‌متر و به فاصله ۲/۵ سانتی‌متر از هم ایجاد گردید. هر یک از چاهک‌ها با ۱۰۰ میکرولیتر از هر یک از غلظت‌های تهیه شده‌ی عصاره متانولی گل پر شد. شاهد منفی آزمایش محلول DMSO بود و آنتی‌بیوتیک کلرامفنیکل به منزله شاهد مثبت استفاده گردید. تمامی محیط‌های کشت تلقیح شده به مدت ۲۴ ساعت در دمای  $37^\circ\text{C}$  قرار داده شدند. پس از مدت معین کشت‌های میکروبی از نظر تشکیل یا عدم تشکیل هاله عدم رشد در اطراف چاهک‌ها مورد بررسی قرار گرفت و قطر هاله عدم رشد برحسب میلی‌متر اندازه‌گیری گردید.<sup>۱۱،۱۲</sup> با استفاده از روش رقت لوله‌ای، حداقل غلظت مهارکنندگی (Inhibitory) رشد (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (Bactericidal) عصاره متانولی تعیین گردید. جهت تعیین MIC، از عصاره متانولی تهیه شده، سری‌های رقت ۲۰۰، ۱۰۰، ۵۰، ۲۵، ۱۲/۵ و ۶/۲۵ میلی‌گرم در هر میلی‌لیتر در محیط مولر هیتون برات تهیه شد. سپس به هر کدام از رقت‌ها یک میلی‌لیتر از سوسپانسیون باکتریایی با غلظت  $1 \times 10^6$  cfu/ml اضافه گردید. لوله‌های کنترل مثبت (محیط کشت حاوی باکتری، بدون عصاره) و کنترل منفی (محیط کشت بدون باکتری) نیز تهیه شدند. در نهایت لوله‌های تلقیح شده به مدت ۲۴ ساعت در دمای  $37^\circ\text{C}$  قرار داده شدند. پس از طی زمان انکوباسیون، لوله‌ها از نظر کدورت ناشی از رشد باکتری تلقیح شده بررسی گردیدند. کمترین رقت از عصاره که در آن کدورتی مشاهده نگردید (عدم رشد) به‌عنوان MIC در نظر گرفته شد. برای تعیین حداقل غلظت کشندگی عصاره‌ها (MBC) از تمامی لوله‌هایی که در آن‌ها عدم رشد مشاهده شده بود، در سطح محیط کشت مولر هیتون آگار کشت داده شد. محیط‌های کشت تلقیح شده به مدت ۲۴ ساعت در دمای  $37^\circ\text{C}$  انکوبه شدند، پلیت مربوط به لوله‌ای که حاوی کمترین غلظت عصاره بود و در آن رشد باکتری مشاهده نمی‌گردید به‌عنوان MBC آن غلظت از عصاره در نظر گرفته شد.<sup>۱۱</sup> جهت اثبات خاصیت ضد میکروبی اسانس گل از روش تهیه رقت در آگار استفاده شد. به طوری که غلظت  $1000 \mu\text{g/ml}$  اسانس در DMSO در محیط کشت مولر هیتون آگار تهیه گردید. پلیت‌ها ۳۰ دقیقه در دمای  $25^\circ\text{C}$  قرار گرفتند. سوسپانسیون میکروبی با غلظت  $1 \times 10^5$  باکتری در هر میلی‌لیتر تهیه شد و در جای مخصوص خود تلقیح گردید. در کنار هر یک از پلیت‌های فوق از یک پلیت به‌عنوان شاهد که تنها حاوی DMSO و محیط کشت بدون اسانس بود، استفاده شد. محیط‌های کشت تلقیح شده به مدت ۲۴ ساعت در دمای  $37^\circ\text{C}$  قرار داده شدند و پس از آن از نظر رشد و یا عدم رشد باکتری‌ها، مورد بررسی قرار گرفتند.<sup>۱۲</sup> هر یک از آزمون‌های بررسی اثرات ضد میکروبی عصاره‌های متانولی و اسانس گل بومادران ۴ مرتبه تکرار گردید و میانگین نتایج به‌دست آمد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار آماری SPSS-14 انجام شد. جهت بررسی وجود اختلاف معنی دار در نتایج به‌دست آمده از آزمون‌های آنالیز واریانس و آزمون  $\chi^2$  استفاده گردید و اختلاف بین گروه‌ها در سطح معنی داری  $p < 0.001$  تعیین شد.

تحقیقات انجام گرفته بر روی اسانس گیاه *Achillea ligustica* خواص ضد میکروبی آن را به وجود ترکیباتی مانند، ساینول و بورنول و سایر ترکیبات سز کوئی ترپنوئیدی نسبت داده است.<sup>۹</sup> با توجه به وجود مواد فتوشیمیایی گوناگون با پتانسیل ضدباکتریایی قابل ملاحظه در گیاه بومادران، لازم است تا مطالعات آزمایشگاهی در جهت تعیین کیفیت و گستره‌ی تأثیر مواد مذکور بر میکروارگانیسم‌های پاتوژن انجام پذیرد.

## روش کار

این مطالعه تجربی-آزمایشگاهی طی تابستان ۱۳۸۸ در آزمایشگاه تحقیقاتی دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان انجام شد. گیاه بومادران در فصل گل‌دهی آن از مراتع و مناطق طبیعی اطراف شهر اصفهان (۱۰۰ کیلومتری اصفهان - شهر کرد) در اواخر اردیبهشت ماه جمع‌آوری شد. نمونه‌ها از نظر گیاه‌شناسی مورد تأیید بخش گیاه‌شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان قرار گرفت. گل‌های گیاه در درجه حرارت اتاق در سایه خشک شدند. سپس گل‌های خشک شده با آسیاب پودر شد و در فریزر نگهداری گردید. جهت اسانس‌گیری از روش تقطیر با آب و دستگاه کلونجر به مدت ۳ ساعت استفاده شد. به طوری که ۳۰۰ گرم پودر گل گیاه خشک شده همراه یک لیتر آب مقطر در دستگاه کلونجر حرارت داده شد. اسانس جمع‌آوری شده پس از رطوبت‌زدایی به وسیله سولفات سدیم، در شیشه‌های کدر و در بسته، دور از نور در دمای  $2^\circ\text{C}$  نگهداری شد. برای تهیه عصاره متانولی نیز ۶۰ گرم پودر گل خشک شده همراه با ۳۰۰ میلی‌لیتر متانول به مدت ۸ ساعت در دستگاه سوکسله قرار داده شد. پس از آن جهت خشک شدن از دستگاه روتاری در دمای  $40^\circ\text{C}$  استفاده شد. از عصاره‌های تغلیظ شده توسط حلال ۵ درصد DMSO (Dimethylsulfoxide)، غلظت‌های مختلف جهت استفاده در آزمایش تعیین MIC و انتشار چاهک تهیه گردید.<sup>۱۱</sup> میکروارگانیسم‌های مورد آزمایش شامل *Bacillus cereus* (ATCC:1247)، *Staphylococcus aureus* (ATCC:25923)، *Escherichia coli* (ATCC:27853)، *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC:25922) به صورت لیوفلیزه از کلکسیون میکروبی مؤسسه تحقیقات بیوتکنولوژی دانشگاه تهران تهیه گردید. نمونه‌های میکروبی مطابق با روش‌های استاندارد احیا شدند. از آنجایی که تعداد باکتری تلقیح شده یکی از مهم‌ترین متغیرهایی است که بر نتیجه این تحقیق اثر می‌گذارد، تراکم سوسپانسیون میکروبی تلقیحی باید استاندارد باشد. بدین منظور برای تهیه سوسپانسیون میکروبی از کشت تازه و جوان باکتری چند کلنی به محیط کشت مولر هیتون برات منتقل شد تا کدورت سوسپانسیون میکروبی تهیه شده مطابق با لوله شماره ۰/۵ استاندارد مک فارلند (کدورت معادل  $1 \times 10^8$  باکتری در هر میلی‌لیتر) تنظیم گردد. برای رسیدن به غلظت  $1 \times 10^6$  باکتری در هر میلی‌لیتر، سوسپانسیون باکتریایی با کدورت معادل لوله ۰/۵ مک فارلند به نسبت ۰/۰۱ رقیق شد. به منظور بررسی اثرات ضد میکروبی عصاره متانولی، ۴ غلظت  $20 \text{ mg/ml}$ ،  $30 \text{ mg/ml}$ ،  $50 \text{ mg/ml}$  و  $400 \text{ mg/ml}$  از عصاره متانولی گل در حلال ۵ درصد DMSO تهیه گردید. در این تحقیق اثر ضد میکروبی عصاره متانولی به دو روش انتشار چاهک و رقت لوله‌ای مورد بررسی قرار

**یافته‌ها**

نتایج حاصل از تاثیر غلظت‌های مختلف عصاره‌ی متانولی گل‌های آکیلا ویلهلمسی به روش انتشار چاهک در جدول ۱ آمده است. دیسک آغشته به آب مقطر استریل شاهد منفی و دیسک کلرامفنیکل شاهد مثبت آزمون بودند. نتایج نشان می‌دهد که عصاره‌ی متانولی گل از رشد استافیلوکوکوس اورئوس و باسیلوس سرئوس جلوگیری نموده است. این اثر بازدارندگی با افزایش غلظت عصاره متانولی بر روی دو باکتری اخیر افزایش یافته است که به صورت افزایش هاله عدم رشد مشاهده شد.

جدول ۱: قطر هاله‌ی عدم رشد بر مسب میلی‌متر در غلظت‌های مختلف عصاره‌ی

متانولی	غلظت عصاره mg/ml				شاهد مثبت	شاهد منفی
	۲۰	۳۰	۵۰	۴۰۰		
استافیلوکوکوس اورئوس	۸	۱۰	۱۰	۱۹	-	۲۰
باسیلوس سرئوس	-	۹	۹	۱۹	-	۱۸
اشرشیاکلی	-	-	-	۱۰	-	۲۵
سودوموناس آئروژینوزا	-	-	-	-	-	۲۳

هم چنین نتایج حاصل از قطر هاله عدم رشد نشان می‌دهند اثرات مهارکنندگی رشد عصاره متانولی گل‌های آکیلا ویلهلمسی بر روی باکتری‌های گرم منفی مورد آزمایش بسیار کم بوده است به گونه‌ای که هیچ گونه اثر ممانعت از رشد بر روی سودوموناس آئروژینوزا نداشت. غلظت ۴۰۰ mg/ml عصاره متانولی گل اثر بازدارندگی کمی بر اشرشیاکلی نشان داد. مقادیر مربوط به حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) عصاره متانولی گل‌های آکیلا ویلهلمسی علیه چهار باکتری منتخب در جدول ۲ مشخص شده‌اند. این نتایج نشان می‌دهند که غلظت ۲۵ mg/ml از عصاره‌ی متانولی گیاه بومادران، استافیلوکوکوس اورئوس اثر کشندگی دارد. غلظت کشنده‌ی این عصاره علیه باسیلوس سرئوس ۱۲/۵ mg/ml به دست آمد.

جدول ۲: حداقل غلظت مهارکنندگی و کشندگی بر مسب mg/ml در غلظت‌های

متانولی	مختلف عصاره‌ی	
	حداقل غلظت	حداقل غلظت
استافیلوکوکوس اورئوس	۱۲/۵	۲۵
باسیلوس سرئوس	۶/۲۵	۱۲/۵
اشرشیاکلی	۲۵	۵۰
سودوموناس آئروژینوزا	-	-

این نتایج بیانگر آن است که در بین باکتری‌های مورد آزمایش از نظر حساسیت عصاره‌ی متانولی گل بومادران اختلاف معنی داری وجود دارد ( $p < 0.001$ ). به عبارت دیگر بیشترین حساسیت نسبت به عصاره‌ی متانولی گل بومادران در باسیلوس سرئوس و کمترین حساسیت در مورد سودوموناس آئروژینوزا وجود داشته است. آزمایش‌های مربوط به تاثیر غلظت ۱۰۰۰ میکروگرم اسانس گل علیه باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس، باسیلوس

سرئوس و اشرشیاکلی اثر مهارکنندگی نشان داد و بر باکتری سودوموناس آئروژینوزا هیچ گونه اثر مهارکنندگی و کاهش رشد مشاهده نشد.

**بحث**

در این مطالعه مشخص گردید که عصاره‌ی متانولی گل‌های این گیاه در غلظت‌های حدود ۳۰ mg/ml از رشد باکتری‌های گرم مثبت مورد آزمایش جلوگیری می‌کند. درحالی‌که برای اثر بر باکتری‌های گرم منفی به غلظت‌های بالاتری از آن نیاز است. هم چنین اسانس آن اثر بازدارندگی قابل ملاحظه‌ای بر روی استافیلوکوکوس اورئوس، باسیلوس سرئوس و اشرشیاکلی دارد. از بین گیاهان دارویی بومادران به دلیل گستردگی خواص درمانی مورد توجه است. این گیاه دارویی هزاران سال است که در درمان انواع گوناگون بیماری‌ها به‌ویژه بیماری‌های عفونی مورد استفاده قرار می‌گرفته است.<sup>۳،۱۳</sup> نتایج حاصل از این تحقیق بیانگر خاصیت ضدباکتریایی عصاره‌ی متانولی گل‌های گونه آکیلا ویلهلمسی بر ضد باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی است. اثر بازدارندگی رشد این عصاره بر باکتری‌های گرم مثبت از غلظت حدود ۳۰ mg/ml آغاز می‌شود. با افزایش غلظت عصاره تا ۴۰۰ mg/ml ناحیه عدم رشد به نحو چشم‌گیری افزایش می‌یابد. هم چنین نتایج نشان می‌دهد که اثر عصاره‌ی متانولی بر علیه باکتری‌های گرم منفی بسیار ضعیف‌تر از انواع گرم مثبت می‌باشد به گونه‌ای که در غلظت ۴۰۰ mg/ml از عصاره‌ی متانولی گل تاثیر بازدارندگی ضعیفی بر علیه اشرشیاکلی نشان می‌دهد. در هیچ‌یک از غلظت‌های مورد آزمون اثر بازدارندگی بر سودوموناس آئروژینوزا نداشته است. نتایج به دست آمده با یافته‌های سایر پژوهش‌های مرتبط مطابقت دارد.<sup>۵،۱۴،۱۵</sup>

در مورد اثرات ضدباکتریایی گونه‌های متنوع آکیلا مطالعات مختلفی انجام شده است. در مطالعه Aljancic و همکارانش مشخص شد که بومادران تحت شرایط آزمایشگاهی از رشد باسیلوس سوبتیلیس، کاندیدا آلیکنس و اسپرژیلوس نایجر جلوگیری می‌کند. آن‌ها فلاونوئیدهای جدا شده از عصاره را عامل اثرات ضد میکروبی آن معرفی نمودند. ترکیبات فلاونوئیدی سنتوردين، پیژنین و ترکیبات منوترپنوئیدی که از سرشاخه‌های گل‌دار A.clavennae و A.lingulata، A.millefolium، A.holosericia به دست آمده‌اند عامل خاص ضدباکتریایی عصاره‌های این گیاهان معرفی شده‌اند.<sup>۸</sup> آزمایشات انجام شده بر روی اسانس A.setaceae و A.teretifolia نیز حاکی از وجود اوکالیپتول، بورنتول، کامفر و ترپنین می‌باشد که خواص ضدباکتریایی این دو گونه را تأیید می‌کنند.<sup>۱۶</sup>

سمنانی و همکارانش در تحقیقی ۱۹ ترکیب را از گل‌های آکیلا ویلهلمسی به روش گاز کروماتوگرافی جداسازی و شناسایی نمودند که کامفر، سینئول، بورنتول و میرنتول ترکیبات فعال این اسانس را تشکیل می‌دادند.<sup>۱۷</sup> جاویدنیا نیز در مطالعه‌ای ۵۷ ترکیب فعال از جمله کارااکرول، لینالول، سینئول، نرولیدول و بورنتول را از عصاره و اسانس گل‌های آکیلا ویلهلمسی جدا نمودند.<sup>۱۸</sup> با توجه به ترکیبات فعال جدا شده از گل‌های آکیلا ویلهلمسی، با نتایج حاصل از این مطالعه در راستای اثبات خواص ضد میکروبی این گیاه همسویی دارد. تاثیر عصاره هیدروالکلی بومادران بر کاندیدا آلیکنس و

فعال درون باکتری‌های گرم منفی را ندارند و به‌همین دلیل معمولاً باکتری‌های گرم منفی در مقایسه با انواع گرم مثبت مقاومت بیشتری نسبت به این ترکیبات نشان می‌دهند. در مطالعه حاضر نیز مشخص گردید که بیشترین اثر ضدباکتریایی اسانس و عصاره‌های الکلی گل‌های آکیلا ویلهلمسی بر علیه باکتری‌های گرم مثبت مشاهده می‌شود. به‌گونه‌ای که ترکیبات فعال موجود در این عصاره‌ها بر روی سودوموناس آئروژینوزا که واجد غشاء خارجی همراه با پورین‌هایی با منافع بسیار کوچک است هیچ‌گونه اثر بازدارندگی رشد ندارد.<sup>۲۱،۲۲</sup> با توجه به اثر ضدباکتریایی قابل ملاحظه‌ی عصاره‌ی متانولی گل‌های آکیلا ویلهلمسی بر روی باکتری‌های بیماری‌زا به ویژه نمونه‌های گرم مثبت که در ایجاد انواع عفونت‌های مخرب و بیمارستانی نقش دارند، این عصاره می‌تواند به‌عنوان یک فرآورده گیاهی طبیعی مدنظر قرار گیرد.

### سپاسگزاری

این مقاله ماحصل یک طرح تحقیقاتی به شماره ۸۸۳۲۸، مصوب باشگاه پژوهشگران جوان دانشگاه آزاد اسلامی واحد فلاورجان بوده است.

### References

- Oussalah M, Caillet S, Saucier L and Lacroix M. 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 2007; 18(5): 414-20.
- Eloff JN. It is possible to use herbarium specimens to screen for antibacterial components in some plants. J Ethnopharmacol 1999; 67(3): 355-60.
- Chevallier A. Encyclopedia of medical plant. London: Dorling Kindersley; 1996.
- Perry I. Medical plants of east and southeast Asia. Cambridge: Mit Press; 1980.
- Baser KH, Demirci B, Demirci F, et al. Composition and antimicrobial activity of the essential oil of Achillea multifida. Planta Med 2002; 68(10): 941-3.
- Magiatis P, Skaltsounis AL, Chinou I and Haroutounian SA. Chemical composition and in-vitro antimicrobial activity of the essential oils of three Greek Achillea species. Z Naturforsch C 2002; 57(3-4): 287-90.
- Aljancic I, Vajs V, Menkovic N, et al. Flavones and sesquiterpene lactones from Achillea atrata subsp multifida: Antimicrobial activity. J Natur Products 1999; 62(6): 909-11.
- Sokmen A, Sokmen M, Daferera D, et al. The in vitro antioxidant and antimicrobial activities of the essential oil and methanol extracts of Achillea biebersteini Afan. (Asteraceae). Phytother Res 2004; 18(6): 451-6.
- Tuberoso CIG, Kowalczyk A, Coroneo V, et al. Chemical composition and antioxidant, antimicrobial, and antifungal activities of the essential oil of Achillea ligustica All. J Agric Food Chem 2005; 53(26): 10148-53.
- Stojanovic G, Radulovic N, Hashimoto T and Palic R. In vitro antimicrobial activity of extracts of four Achillea species: The composition of Achillea clavennae L. (Asteraceae) extract. J Ethnopharmacol 2005; 101(1-3): 185-90.
- Skocibusic M, Bezic N, Dunkic V and Radonic A. Antibacterial activity of Achillea clavennae essential oil against respiratory tract pathogens. Fitoterapia 2004; 75(7-8): 733-6.
- Sokmen A, Vardar-Unlu G, Polissiou M, et al. Antimicrobial activity of essential oil and methanol extracts of Achillea sintenisii Hub. (Asteraceae). Phytother Res 2003; 17(9): 1005-10.
- Arora DS, Kaur J. Antimicrobial activity of spices. Int J Antimicrob Agent 1999; 12(3): 257-62.
- Barel S, Segal R, Yashphe J. The antimicrobial activity of the essential oil from Achillea fragrantissima. J Ethnopharmacol 1991; 33(1-2): 187-91.
- Bezic N, Skocibusic M, Dunkic V and Radonic A. Composition and antimicrobial activity of Achillea clavennae L. essential oil. Phytother Res 2003; 17(9): 1037-40.
- Unlu M, Daferera D, Donmez E, et al. Compositions and the in vitro antimicrobial activities of the essential oils of Achillea setacea and Achillea teretifolia (Compositae). J Ethnopharmacol 2002; 83(1-2): 117-21.
- Morteza-Semnani K, Azadbakht M, Khansari N. The essential oils composition of Achillea wilhelmsii C. Koch leaves and flowers. J Med Plants 2003; 2(6): 55-8.
- Javidnia K MR, Sadeghpour H. Composition of the volatile oil of Achillea wilhelmsii C. Koch from Iran. DARU 2004; 12(2): 63-5.
- Ataei Z, Abdolahi H, Naderi Pour S and Mohamadi S. An in vitro study of the effects of Yarrow, Chamomile and Rhubarb herbal extracts on candida albicans and common oral bacteria. Iran J Dentist 2006; 18(3): 25-31.
- Kermanshah H, Hashemi-Kamangar S, Arami S. Antibacterial activity of hydroalcoholic extract of Salvia officinalis and Achilles millefolium against

- cariogenic microorganisms: An In-vitro investigation. Iran J Dentist 2009; 21(3): 215-20.
21. Juven BJ, Kanner J, Schved F and Weisslowicz H. Factors that intract with the antibacterial action of Thyme essential oil and its active constituents. J Appl Bacteriol 1994; 76(6): 626-31.
22. McKeegan KS, Borges-Walmsley MI, Walmsley AR. Microbial and viral drug resistance mechanisms. Trend Microbiol 2002; 10(suppl10): S8-14.

## ***Antibacterial activity of methanol extract and essential oil of *Achillea wilhelmsii* against pathogenic bacteria***

**Marvam Mohammadi-Sichani,<sup>1</sup> Leila Amjad,<sup>2</sup> Marzyeh Mohammadi-Kamalabadi<sup>3</sup>**

Received: 14/Jul/2010

Accepted: 24/Aug/2010

**Background:** Increased bacterial resistance to antibacterial agents is one of the most common problems in medicine. Herbal remedies used in the traditional medicine provide an interesting and unexplored source of assessing new drug. The purpose of this study was to determine antibacterial activity of methanol extract and essential oil of aerial part of *Achillea wilhelmsii* against bacteria.

**Materials and Methods:** *Achillea wilhelmsii* C-Koch is an endemic plant that has relatively wide distribution in different parts of Iran. The concentrations of 20, 30, 50 and 400 mg/ml of methanol extract were prepared. Antibacterial activities were examined by agar dilution and well diffusion methods against *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *E. coli* and *Pseudomonas aeruginosa*. Minimum Inhibitory Concentration (MIC) or Minimum Bactericidal Concentration (MBC) was carried out by tube dilution and well-diffusion methods.

**Results:** Methanol extracts exhibited inhibitory effects on *S. aureus*, *B. cereus* and *E. coli* with a range of MIC values extended from 6.25 to 25 mg/ml. Essential oil at concentration of 1000µg/ml was active against *S. aureus*, *B. cereus* and *E. coli*. They did not have any activity on *P. aeruginosa*.

**Conclusion:** Methanol extract and essential oil of aerial part of *Achillea wilhelmsii* inhibited growth of pathogenic bacteria especially gram positive bacteria. Clinical applications of these materials needed further investigations. [ZJRMS, 13(3): 9-14]

**Keywords:** *Achillea wilhelmsii*, antibacterial activity, plant extract

1. Instructor of Microbiology, Falavarjan Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran.

2. Assistant Professor of Biology, Falavarjan Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran.

3. MSc of Microbiology, Young Researchers Club, Falavarjan Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran.

Please cite this article as: Mohammadi-Sichani M, Amjad L, Mohammadi-Kamalabadi M. Antibacterial activity of methanol extract and essential oil of *Achillea wilhelmsii* against pathogenic bacteria. Zahedan J Res Med Sci (ZJRMS) 2011; 13(3): 9-14.