

تأثیر خاصیت ضد باکتریایی عصاره الکلی برگ کاج بر باکتری‌های جداشده از نمونه‌های ادرار افراد مبتلا به عفونت ادراری - تناسلی

یاسر نوظهور^{۱*}، محمدحسن رسولی‌فرد^۲، جعفر رحمانی کهنموئی^۳، پیام فرامرزی^۴

۱. دانشجوی دکترای حرفه‌ای دامپزشکی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران
۲. کارشناس گروه آموزشی بهداشت مواد غذایی و آبزیان، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران
۳. استادیار گروه علوم درمانگاهی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران
۴. دانشجوی دکتری تخصصی، اهواز، دانشگاه شهید چمران، اهواز، ایران

چکیده

تاریخ دریافت: ۹۶/۶/۲۵
تاریخ پذیرش: ۹۶/۰۸/۳۰

مقدمه عفونت دستگاه ادراری یکی از شایع‌ترین عفونت‌های باکتریایی و دومین عامل عفونت شناخته می‌شود. عامل این عفونت در اغلب موارد باکتری‌ها، به‌خصوص باکتری‌های مانند اشرشیاکلی، استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس، کلبسیلا، پروتئوس و انتروباکتر است که در تمام گروه‌های سنی و در هر دو جنس دیده می‌شود. اساس درمان مناسب در عفونت‌های ادراری انتخاب آنتی‌بیوتیک مناسب با کارایی و اثربخشی بالاست. امروزه، مسئله مقاومت آنتی‌بیوتیکی در میان باکتری‌های پاتوژن به مشکلی جدی تبدیل شده است. مطالعه حاضر با هدف ارزیابی اثر ضدباکتری عصاره الکلی برگ کاج بر باکتری اشریشیاکلی انجام گرفته است. **روش بررسی** در این مطالعه تجربی، عصاره الکلی برگ کاج تهیه شد. همچنین، باکتری اشریشیاکلی و استافیلوکوکوس آرنوس از نمونه بیماران جدا، سپس فعالیت ضد باکتریایی عصاره برگ کاج با روش رقت لوله‌ای در تعیین حداقل غلظت ممانعت از رشد (MIC) و حداقل غلظت باکتری‌کشی (MBC) به‌طور جداگانه استفاده شد. **نتایج** نتایج حاصل از آزمایش‌های MIC و MBC هم مشخص کرد که میزان مهار رشد باکتری‌های اشریشیاکلی و استافیلوکوکوس آرنوس با عصاره با میزان عصاره موجود در رقت‌ها رابطه مستقیم دارد و با افزایش میزان عصاره در هر رقت از تعداد کلنی‌های باکتری بعد از کشت کاسته می‌شود و در رقتی که نشان‌دهنده MBC عصاره در مورد هر یک از جدایه‌ها بود، هیچ یک اصلاً رشد نکرد. **بحث و نتیجه‌گیری** نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که عصاره برگ کاج دارای خاصیت ضدباکتریایی است و منبع ارزان و در دسترس و جایگزین داروهای شیمیایی برای درمان برخی عفونت‌های باکتریایی قابل استفاده است.

کلیدواژه‌ها:

برگ کاج، ضد باکتریایی، عصاره.

مقدمه

باکتری‌ها موجب افزایش بروز عفونت ادراری غیرعادی می‌شود. عفونت ادراری از شایع‌ترین عفونت‌ها در جوامع مختلف و از مشکلات بهداشتی بسیاری از کشورها بوده است. در آمریکا، عفونت‌های ادراری، پس از عفونت‌های تنفسی مردان در بسیاری از زنان و در مقام دوم قرار دارد که طول زندگی خود به آن مبتلا می‌شوند [۱]. استافیلوکوکوس اورئوس باعث عفونت‌های چرکی، توکسینوز، جوش،

عفونت‌های ادراری، به‌ویژه نوع حاد آن در زنان جوان، در ۳۰-۴۰ درصد موارد پس از بهبودی، عود شایع بوده است و عفونت مشاهده می‌شود. منبع عفونت در اغلب موارد فلور روده است که در برخی شرایط از جمله فراهم بودن عوامل مستعدکننده، تعداد این

* نویسنده مسئول: یاسر نوظهور

نشانی: دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران

تلفن: ۰۹۱۴۸۱۹۴۵۹۷ دورنگار:

رایانه: Yasar_nozohour@yahoo.com

شناسه ORCID: 0000-0001-8314-2466

مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی سبزوار، دوره ۲۵، شماره ۲، خرداد و تیر ۱۳۹۷، ص ۱۲۱-۱۲۶

آدرس سایت: <http://jsums.medsab.ac.ir> رایانه: journal@medsab.ac.ir

شاپای چاپی: ۱۶۰۶-۷۴۸۷

چین استفاده می‌شده است [۵]. مخروط درخت کاج دارای انواع ترکیبات فعال است، نظیر پلی‌ساکاریدها، تانن‌ها، لیگنین‌ها و انواع مختلفی از ترکیبات فنلی و ترپنوییدی. امروزه، به‌علت بروز مقاومت‌های میکروبی به آنتی‌بیوتیک‌ها، استفاده از گیاهان و ترکیبات آن جایگزین آنتی‌بیوتیک‌های رایج مطرح شده است [۶].

نتایج بسیاری از مطالعات نشان می‌دهد که عصاره‌های برخی گیاهان توانایی مهار رشد میکروارگانیسم‌ها را داراست و به‌این لحاظ، گیاهان دارویی عوامل ضد میکروبی جدیدی است که کاربردهای زیادی یافته است، از جمله در پزشکی و صنایع غذایی. ترکیبات ضد میکروبی گیاهان دارویی یکی از منابع بارزش در پزشکی است و در نتیجه گسترش بیماری‌های عفونی، شناسایی تعداد بیشتری از این گیاهان و خالص‌سازی ترکیبات مؤثر آن‌ها در درمان بیماری‌ها مفید خواهد بود.

ترکیبات ضد میکروبی با منابع گیاهان دارویی قابلیت درمانی بی‌شماری دارد. نه‌تنها در درمان بیماری‌های عفونی نقش دارد، بلکه به‌طور هم‌زمان از تعداد زیادی از آثار جانبی مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها می‌کاهد [۷]. در پژوهش حاضر با تهیه عصاره الکلی از برگ کاج، باکتری اش‌ریشیاکلی و استافیلوکوکوس آرنوس تحت تأثیر این عصاره قرار گرفت و تأثیر باکتری‌کشی آن بررسی شد.

مواد و روش‌ها

جداسازی باکتری

نخست، نمونه‌های ادراری و تناسلی بیماران مشکوک جمع‌آوری شد. سپس، به‌منظور کشت و جداسازی به آزمایشگاه میکروبی‌شناسی انتقال یافت. برای جداسازی باکتری اش‌ریشیاکلی نمونه با استفاده از لوپ روی محیط کش EMB کشت داده شد و به‌مدت ۴۸ ساعت انکوبه شد. سپس، کلنی‌های تک و دارای جلای فلزی در محیطی عمومی مانند نوترینت آگار به‌صورت خطی منطقه‌ای کشت داده و انکوبه شد. سپس، کلونی‌های تک در محیط بیوشیمیایی MRVP و سیمون سیترات و ایندول کشت یافت و انکوبه شد. بعد از ۲۴ ساعت نمونه‌های دارای MR مثبت و حلقه اندول مثبت و سیمون سیترات منفی باکتری *E. coli* بود [۸].

تهیه عصاره الکلی کاج

۲۰۰ گرم نمونه پودر شده با ۴۰۰ سی‌سی حلال اتانول ۹۶ درصد کاملاً مخلوط و به‌مدت ۲۴ ساعت در محیط تاریک در ظرف در بسته خیس‌انده شد. برای تسریع عمل عصاره‌گیری، ظرف حاوی پودر گیاهی و حلال روی دستگاه لرزاننده

گل‌مژه و استئومیلیتیس واندوکاردیتیس در انسان می‌شود. استافیلوکوکوس اورئوس با آزادسازی انترتوکسین‌ها به غذا مسمومیت غذایی و با آزادسازی سوپرانتی‌ژن‌ها به بستر خون سندرم شوک توکسیک ایجاد می‌کند [۲].

اش‌ریشیاکلی (*E. coli*) باکتری گرم منفی است که معمولاً در قسمت‌های پایین تر روده حیوانات خونگرم یافت می‌شود. سوش‌های ویروالنت *E. coli* گاستروانتریتیس، عفونت مجاری ادراری و مننژیت ایجاد می‌کند. در موارد نادرتر، سوش‌های بدخیم مسئول ابتلا به سندرم همولیتیک-اورمیک صفاق التهاب، پریتونیت، ورم پستان، سپتی‌سمی و ذات‌الریه گرم منفی است [۳]. به‌رغم توانایی بسیار گسترده آنتی‌بیوتیک‌ها، همچنان عفونت ادراری شایع‌ترین عفونت باکتریایی در جمعیت انسانی باقی‌مانده است و پس از عفونت دستگاه تنفسی، بالاترین درجه اهمیت را دارد. از طرفی، باکتری *E. coli* از خانواده آنتروباکتیریا و شایع‌ترین عامل عفونت‌های دستگاه ادراری است [۱].

یکی از این گیاهان دارویی که از زمان‌های گذشته تا کنون نتایج اثربخش درمانی در مقابله با بیماری‌های مختلف داشته است، میوه درخت کاج تهران (*Pinus elderica*) و زیرگونه جنس (*Pinus*) است. این جنس متعلق به تیره کاج (*Pinaceae*) و راسته (*Pinal*) است که برخی گیاه‌شناسان آن را گونه‌ای مستقل می‌شناسند و عده‌ای دیگر آن را یکی از شکل‌های جغرافیایی کاج بروسیا یا وارپته‌ای از کاج حلب دانسته‌اند. این گونه بومی دشت الدار در جمهوری آذربایجان است. تاریخ ورود احتمالی این درخت به ایران بیش از ۸۰۰ سال پیش و در عهد صفویه تخمین زده می‌شود، در حالی که برخی دیگر قدمت آن را در ایران به زمان هخامنشیان می‌رسانند. میوه مخروطی کاج تهران به شکل تخم‌مرغی واژگون، نامتقارن و گاه در قسمت نوک کمی خمیده است. ۵-۶ سانتی‌متر طول و ۳-۴ سانتی‌متر پهنا دارد. معمولاً ۲ تا ۳ عدد با هم روی پایکی کوتاه، به حالت راست، افقی و گاه آویزان قرار دارد [۴]. در متون طب کهن ایران از قسمت‌های مختلف انواع رده کاج، به‌خصوص صمغ آن، برای درمان زخم‌های کهنه استفاده می‌شده است. همچنین، در طب سنتی ژاپن از مخروط کاج برای درمان سرطان معده و نیز به‌عنوان ماده محرک سیستم ایمنی در افراد مبتلا به لوسمی و نیز ماده ضد تومور استفاده می‌شده است. علاوه بر این، مخروط کاج برخی گونه‌های کاج برای سال‌های بسیاری در درمان بیماری‌هایی نظیر آسم، برونشیت، سرفه و بیماری‌های دیگر در طب سنتی

برداشته و به گودی سوم و از سوم به چهارم الی نه، از گود نه به مقدار ۱۰۰ میکرولیتر برداشت و دفع شد. به نمونه شاهد عصاره گیاهی در گوده آخر هر ردیف ۱۰۰ میکرولیتر عصاره اضافه شد. سپس، هر کدام از نمونه‌های باکتریایی با غلظت ۰/۱ از نیم مک‌فارلند به مقدار ۱۰۰ میکرولیتر به هر گوده اضافه شد (به جز نمونه شاهد محیط کشت و عصاره گوده یازده و دوازده). در پایان معرف رنگی رزازورین به میزان ۳۰ میکرولیتر به تمامی گوده‌ها اضافه شد. رزازورین محیط کشت را به رنگ آبی تیره تغییر داد. سپس، میکروپلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ سانتی‌گراد گرماخانه‌گذاری شد. بعد از اتمام ۲۴ ساعت تغییرات از نظر رنگ به صورت چشمی بررسی شد [۱]. برای تعیین حداقل غلظت بازدارنده رشد کمترین غلظتی که تغییر رنگ ایجاد نکرده بود، به عبارتی کمترین غلظتی که از رشد جلوگیری کرده بود MIC گزارش شد.

تعیین کمترین غلظت باکتری‌کشی

بعد از قرائت نتیجه MIC از گوده ۱ تا گود بعدی MIC با آنس استریل نمونه برداشته و در محیط کشت BHI آگار کشت شد. پلت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرماخانه‌گذاری شد. در تفسیر، نخستین غلظتی در ستون MBC ثبت شد که در آن هیچ رشدی دیده نشده بود [۷]. این آزمون‌ها در آزمایشگاه میکروبی‌شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد تبریز انجام شد.

نتایج

نتایج حاصل از بررسی آثار ضدباکتریایی عصاره برگ کاج با استفاده از روش MIC و MBC همچنین نتایج مربوط به آزمایش‌های بررسی آثار ممانعت از رشد و باکتری‌کشی عصاره برگ کاج بر جدایه مورد آزمایش در جدول ۱ نشان داده شده است. چنانچه مشاهده می‌شود خاصیت مهارکنندگی و باکتریکشی این عصاره در مورد باکتری اشریشیاکلی رقت ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۱۲/۵ درصد را نشان می‌دهد. خاصیت MIC در مورد استافیلوکوکوس آرئوس در رقت‌های ۵، ۲۵، ۵۰، ۲۵/۱۰۰ و ۶/۱۲ درصد و MBC در رقت‌های ۵، ۲۵، ۵۰ و ۱۲/۱۰۰ درصد است (جدول ۲).

قرار گرفت. بعد از اتمام عملیات عصاره‌گیری، عصاره به دست آمده صاف و با استفاده از دستگاه روتاری تغلیظ و در یخچال با میانگین دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد [۹].

ارزبابی فعالیت ضدباکتریایی

خواص ضدباکتریایی عصاره الکلی برگ کاج به روش انتشار در آگار توصیف‌شده آندریوس انجام شد [۶]. بدین منظور سوسپانسیون باکتریایی معادل استاندارد نیم مک‌فارلند در محلول سرم فیزیولوژی استریل تهیه شد. سپس، ۰/۱ میلی‌لیتر از سوسپانسیون باکتری حاوی 10^8 cfu/ml روی محیط مغذی و محیط مولر هینتون آگار کشت داده و با پیت شیشه‌ای پاستور خم‌شده به طور کامل روی محیط پخش شد. بعد از خشک شدن سطح محیط روی هر کدام از دیسک‌های کاغذی استریل به قطر ۶ میلی‌متر مقدار ۳۰ میکرولیتر از عصاره الکلی کاج ریخته و در آزمایش مذکور بعد از کشت باکتری در محیط کشت و خشک شدن از آنتی‌بیوتیک استاندارد تتراسایکلین (۳۰ میکروگرم) استفاده شد. پلت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای مناسب گرماخانه گذاشته شد. فعالیت ضدباکتریایی بر مبنای اندازه‌گیری قطر هاله عدم‌رشد اطراف دیسک‌ها بر حسب میلی‌متر انجام گرفت [۱۰].

تعیین کمترین غلظت مهارتی رشد در این تحقیق، به روش احیای رنگ انجام گرفت. رنگ مورد استفاده رزازورین (Rezazurin) بود که از شرکت Aldrich خریداری و به صورت ۰/۱ گرم در ۱۰۰ سی‌سی آب استریل حل شد. این رنگ یکی از پرکاربردترین رنگ‌های مورد استفاده در آزمایش‌هایی است که نیاز به مصرف رنگ حساس دارند، زیرا به میزان بسیار کم کاهش یا افزایش غلظت نمونه پاسخ می‌دهد.

برای تعیین کمترین غلظت مهارتی رشد عصاره، از چهار میکروپلیت استریل ۹۶ گوده‌ای استفاده شد (در ۸ ردیف و ۱۲ ستون). به تمامی گوده‌ها، به جز گوده نخست هر ردیف ۱۰۰ میکرولیتر محیط کشت مولر هینتون برات اضافه شد. سه گودی آخر هر ردیف از چپ به راست، نمونه کنترل سوسپانسیون باکتریایی، محیط کشت و عصاره گیاهی بود. پس از افزودن محیط کشت، مقدار ۱۰۰ میکرو لیتر عصاره در گودی اول و دوم ریخته شد (ایجاد رقت ۱۰۰ درصدی در گودی نخست). سپس، به ترتیب از گودی دوم ۱۰۰ میکرولیتر

جدول ۱. نتایج آزمایش‌های تعیین‌کننده MIC و MBC عصاره برگ کاج در باکتری اشریشیاکلی

گوده	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹	۱۰	۱۱	۱۲
رقت‌های مختلف استفاده‌شده از عصاره برگ کاج	٪۱۰۰	٪۵۰	٪۲۵	٪۱۲/۵	٪۶/۲۵	٪۳/۱۲	٪۱/۵۶	٪۰/۷۸	٪۰/۳۹	شاهد باکتری	شاهد محیط	شاهد ماده
اشریشیاکلی	MIC	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-

	MBC		-	-	-	-	+	+	+	+	+	+		
--	-----	--	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	--	--

- عدم رشد جدایه

+ رشد جدایه

جدول ۲. نتایج آزمایش‌های تعیین‌کننده MIC و MBC عصاره برگ کاج در مورد باکتری استافیلوکوکوس آرتوس

رقت‌های مختلف استفاده شده از عصاره برگ کاج		گوده	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹	۱۰	۱۱	۱۲
استافیلوکوکوس آرتوس		MIC	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-
ارثوس		MBC	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+		

- عدم رشد جدایه

+ رشد جدایه

بحث و نتیجه‌گیری

عفونت ادراری شایع‌ترین عفونت بیمارستانی در بین انسان‌هاست. طبق مطالعات انجام‌شده، ۹۰ درصد از عفونت‌های ادراری بر اثر اشریشیاکلی ایجاد می‌شود. مطالعه عفونت‌های بیمارستانی و مقاومت آنتی‌بیوتیکی باکتری‌های ایجادکننده عفونت‌ها اهمیت خاصی دارد. مطالعات بیانگر آن است که بیشترین عوامل عفونت‌های بیمارستانی باکتری‌های گرم منفی اشریشیاکلی است. مطالعات جدید نشان می‌دهد که اشریشیاکلی جداشده از انسان مهم‌ترین پاتوژنی است که افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی را نسبت به نسل نخست ضدمیکروبی به‌خصوص اغلب داروهای در طیف وسیع نشان می‌دهد مثل آمپی‌سیلین بیوتیک حتی آمینوگلیکوزید و سومین نسل سفالوسپورین‌ها و فلورکینولون [۱۳].

گسترش مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی در سال‌های اخیر اهمیت عفونت‌های باکتریایی در بیماری‌های عفونی را همچنان پررنگ نگاه داشته است. با توجه به این امر مهم در سال‌های اخیر مطالعات مستمر به‌منظور شناسایی آثار ضد میکروبی اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی صورت گرفته است که نشان‌دهنده تأثیر مهاری این ترکیبات بر طیف گسترده‌ای از میکروارگانیسم‌های بیماری‌زاست. برگ درخت کاج حاوی مونوترپن‌ها و دی‌ترپنوبیدهاست و خاصیت ضدمیکروبی دارد. مخروط درخت کاج دارای انواع ترکیبات فعال نظیر پلی‌ساکاریدها، تانن‌ها، لیگنین‌ها و انواع مختلفی از ترکیبات فنولی و دارای خاصیت ضدمیکروبی است [۶].

فنل‌های ساده و فنولیک اسید از ساده‌ترین ترکیبات شیمیایی و دارای فعالیت زیستی مهم در گیاهان است. سینامیک اسید و کافئیک اسید نمایندگان گروه بزرگی از ترکیبات مشتق از ماده فنیل پروپان است که در بیشترین

سطح اکسایش قرار دارد. کافئیک اسید که از ترکیبات فنیل پروپان است بر علیه باکتری‌ها مؤثر است. سازوکار تأثیر این مواد از طریق واکنش با گروه‌های سولفیدریل، یا واکنش غیراختصاصی با پروتئین‌هاست و از این طریق باعث توقف یا مهار فعالیت باکتری‌ها می‌شود. برگ کاج با داشتن ترکیبات فلاونوئیدی باعث مهار رشد باکتری‌ها می‌شود. سازوکار تأثیر این مواد از طریق اتصال به پروتئین‌های خارج سلولی و محلول و اتصال به دیواره سلول باکتری‌ها مؤثر واقع می‌شود. فلاونوئیدها چربی‌دوست‌اند و غشای باکتری‌ها را متلاشی می‌کنند.

همچنین، در برگ کاج مواد ترپنوبید و اسانس‌های فرار وجود دارد که از متابولیت‌های ثانویه گیاه محسوب می‌شود. فعالیت مهارکنندگی ترپنوبیدها علیه باکتری‌ها، قارچ‌ها و ویروس‌ها شناسایی شده اما سازوکار عملکرد آن‌ها به‌روشنی شناخته نشده است [۱۴].

مطالعه آثار و همکارانش روی خاصیت ضدمیکروبی کاج تهرانی نشان داد که این عصاره روی باکتری‌های مولد عفونت‌های پوستی اثر مهاری دارد که با نتایج ما همخوان است [۱۴]. هافورد و همکاران بیان کردند که مواد موجود در درخت کاج روی باکتری استافیلوکوکوس آرتوس اثر مهاری دارد و با توجه به خاصیت ضدباکتریایی این عصاره، با مطالعه حاضر همخوانی دارد [۱۵].

بیراهو و همکاران قطر منطقه مهاری ایجادشده با عصاره آبی پوست تنه بلوط اروپایی را برای باکتری اشریشیاکلی ۱۲ میلی‌متر گزارش کردند [۱۵]. همچنین، باتیسا و همکاران نیز تأثیر مهاری صمغ درخت کاج را بر استافیلوکوکوس آرتوس و تعدادی از باکتری گرم منفی تأیید کردند [۱۶]. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که استفاده از کاج جایگزین مناسبی برای آنتی‌بیوتیک‌های صنعتی در مقابله با جدایه‌های مورد آزمایش

به نظر می‌رسد که این ماده‌ها و ترکیبات مختلف آن جایگاه ویژه‌ای در علوم پزشکی و دامپزشکی دارد.

در نظر گرفته می‌شود. البته، در این خصوص مطالعات بیشتری نیاز است تا بتوان آثار ضدباکتریایی برگ کاج و ترکیبات آن را دقیق‌تر بررسی کرد. همچنین، با توجه به ویژگی نتایج ضدباکتریایی به دست آمده در این مطالعه و تحقیقات مشابه

References

- [1]. Norouzi I, Kargar M, Pourshahian F, Kamali M. Prevalence of urinary tract infections caused by *Escherichia coli* Antibiotic resistance and plasmid isolated *E. coli* in Jahrom. *Journal of Military Medical University Islamic Republic of Iran*. 2006; 4(1): 745-749. [in Persian]
- [2]. Kluytmans J, Belkum A, Verbrugh H. Nasal carriage of *Staphylococcus aureus*: epidemiology, underlying mechanisms, and associated risks. *Clin Microbiol Rev*. 1997; 10(3): 505-20.
- [3]. Morray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS. *Medical microbiology*. 4th ed. Mosby: St. Luis; 2002: 790-5.
- [4]. Zargari. *Medical plants*. 5th ed. Tehran, Tehran University Press. 1992: 3-6.
- [5]. Zare H. *Native and non-native spices of conifers in Iran*. 1th ed. Research Insituation of Forest and Ranges in Iran.
- [6]. Sakagami H, Kawazoe Y, Oh-hara T, Kitajima K, Inoue Y, Tanuma S, Ichikawa S, Konno K. Stimulation of human peripheral blood polymorphonuclear cell iodination by lignin-related substances. *J. Leuk. Biol*. 1991; 49: 277.
- [7]. Iscan G, Kirimer N, Kurkuoglu M, Baser K, Demirci F. Antimicrobial screening of *Mentha piperita* essential oils. *Journal of Agriculture Food Chemistry*. 2002; 50: 3943-3946.
- [8]. Bradley M. Examination of urine. In: Davidsohn TS, editors. *Clinical diagnosis and management by laboratory methods*. 17th ed. Philadelphia: WB Saunders Co; 2000: 380-455.
- [9]. Amabeoku G, Erasmus S, Oiewole J, Mukinda J. Antipyretic and antinociceptive properties of *Mentha longifolia* Huds. (Lamiaceae) leaf aqueous extract in rats and mice. *Methods Find Exp Clin Pharmacol*. 2009; 31(10): 645-9.
- [10]. Andrews JM. Determination of minimum inhibitory concentrations. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2001; 48: 5-16.
- [11]. Acker IL, Meseol PM. Inventors; Method fordetermining minimum inhibitory concentration of antibiotic. United States Patent 3, 983, 006. 1976 Sept 28.
- [12]. Jan N, Meshram SU, Kulkarni A. Plasmid profile analysis of multidrug resistant *E. coli* isolated from UTI patients of Nagpur city, India. *Rom Biotech Let*. 2009; 14(5): 4635-40.
- [13]. Novakova I, Kacaniova M, Hascik P, Pavlicova S, Hleba L. The resistance to antibiotics in strains of *E. coli* and enterococcus sp. Isolated from rectal swabs of lambs and calves. *Lucrari Stiintifice Zootehnie Sibiotehnologii*. 2009; 42(2): 322-26.
- [14]. Asar Sh, Jafar zadeh A, Mohaggi M, Bahar Abadi R. The effect of antimicrobial resin on the skin causing infection. *Journal of Rafsanjan*. 2005; 4(3): 186-191.
- [15]. Hufford D. Antimicrobial compounds from *petalostemum purpureum*. *Journal of Natural Product*. 1996; 1878-1889.
- [16]. Batisa O, Durate A, Nasimento J. Structure and antimicrobial activity of diterpens from the roots of *pletranthus hereroensis*. *J Nat Prod*. 1994; 57(6): 858-61.
- [17]. .

Anti-bacterial effect of alcoholic extract of pine on bacteria isolated from urine of patients with urinary tract infection – genital

Yaser nozohour^{1*}, mohamadhassan rasouli fard², Jafar rahmani kahnamoei³, payam faramarzi⁴

1. student of veterinary medicine, faculty of veterinary medicine, Tabriz branch, Islamic azad university, Tabriz, Iran.
2. Department of food hygiene and aquaculture unit, Islamic Azad university, Tabriz, Iran.
3. Department of clinical science, Tabriz branch, Islamic azad university, Tabriz, Iran.
4. phd student of Anatomy and Embryology shahid chamran university of ahvaz, Iran.

Abstract

Urinary tract infection is one of the most common infections and the second cause of infection in human body. The main cause of this infection is bacteria such as *Staphylococcus*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Enterobacter*. The base of treatment for urinary tract infection is administrating an appropriate antibiotic. Today, antibiotic resistance is considered as an important challenge in treating infections. High and unnecessary use of antibiotics especially in urinary infections resulted in resistance to some antibiotics. This study aimed to evaluate the antibacterial effect of alcoholic extract of *Escherichia coli* took over the pine leaves.

In this experimental study, the alcoholic extract was extracted using. Its antimicrobial activity agar disk diffusion method for determination of bacterial sensitivity determination of minimum inhibitory concentration (MIC) and dilution method for determination of minimum bactericidal concentration (MBC) is used, separately.

Also, the results of MIC and MBC tests indicated that the inhibition of *E. coli* and *Staphylococci aureus* bacterial growth by alcoholic extract of pine had a direct relationship with the amount of available alcoholic extract of pine. By increase of alcoholic extract of pine in each dilution, reduced number of cultured bacterial colonies and no bacterial growth was observed in the dilution equivalent to MBC of alcoholic extract of pine.

The results suggest that alcoholic extract of pine can be used as a source of cheap and accessible replacing chemical drugs to treat some bacterial infections.

Received: 2017/09/16

Accepted: 2017/11/21

Keywords: anti-bacterial, extract, pine.