Archive of SID

مقایسه اثر انواع عصاره های چای ترش و آنتی بیوتیک های انتخابی بر سویه های بالینی و استاندارد عامل عفونت در شرایط محیط کشت

فریده طباطبایی یزدی[۱]*، سید علی مرتضوی[۲]، بهروز علیزاده بهبهانی[۳]، علیرضا وسیعی[۳]، سمیرا مرادی[۴]، فروزان طباطبایی یزدی[۵]، سارا جعفریان[۶]

۱ - دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
۲ - استاد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
۳- دانشجوی دکتری علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
۴- دانشجوی کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران
۵- عضو گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
۶ - گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد سوادکوه

***نشانی برای مکاتبه:** مشهد، دانشگاه فردوسی، دانشکده کشاورزی، گروه علوم و صنایع غذایی، تلفن۸۷۶۳۸۴۲-۰۵۱۱،
tabatabai@um.ac.ir

دریافت مقاله: آذر نود و سه پذیرش برای چاپ: اسفند نود و سه

چکیده

سابقه و هدف: *تحقیقات فروانی جهت جای گزین کردن داروهایی با منشاء گیاهی انجام گرفته است؛ از آنجا که ترکیبات ضدمیکروبی گیاهی با ساختارهای متفاوت از آنتی بیوتیک ها، باعث از بین رفتن باکتری ها می شوند که از نظر بالینی، این موضوع در درمان عفونت های ناشی از سویه های مقاوم میکروبی حایز اهمیت است، لذا مطالعه حاضر با هدف تعیین اثر ضد باکتریایی انواع عصاره های چای ترش بر تعدادی سویه بالینی عامل عفونت و مقایسه آن با آنتی بیوتیک های رایج درمانی در شرایط محیط کشت انجام پذیرفت.*

روش کار: *در این مطالعه آزمایشگاهی سه نوع عصاره آبی، اتانولی و متانولی به روش خیساندن تهیه شد. ارزیابی میکروب شناسی عصاره ها به چهار روش پور پلیت، کربی باثر با کمک دیسک، حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) با استفاده از روش Serial Dilution Method بر ۶ سوش بیماری زای عامل عفونت انجام پذیرفت. تعیین کدورت میکرو پلیت با دستگاه خوانش الایزا انجام شد.*

یافته‌ها: *عصاره اتانولی چای ترش دارای قطر هاله معادل ۵۰/۰± ۲۰/۱۶در غلظت ۴۰ میلی گرم بر میلی لیتر بر سودوموناس ائروژینوزا بود. باکترهای استافیلوکوکوس اورئوس و سالمونلا اینتریتدیس به ترتیب بیش ترین و کم ترین حساسیت را به عصاره های چای ترش نشان دادند. سالمونلا اینتریتدیس بین سوش های مورد آزمون بیش ترین MIC و MBC را داشت. غلظت های ۳۰ و ۴۰ میلی گرم بر میلی لیتر از عصاره های چای ترش دارای اثر ضد میکروبی قابل توجهی روی باکتری ها بود. اثر ضد باکتریایی عصاره ها با کاهش غلظت آن ها در دیسک، کم شد.*

نتیجه‌گیری: *عصاره‌های الکلی چای ترش بر رشد تمامی باکتری های مورد آزمون دارای اثر ضد میکروبی بودند و اثر ضد میکروبی آن بر باکتری گرم مثبت استافیلو کوکوس اورئوس حداکثر بود.*

واژگان کلیدی: چای ترش، سویه های بالینی، آنتی بیوتیک، شرایط محیط کشت

مقدمه

باکتری های بیماری زا به وسیله مکانیسم های مختلفی نسبت به داروهای ضدمیکروبی و آنتی بیوتیک های رایج درمانی مقاوم می شوند که از آن جمله می توان به تغییر نفوذپذیری سوش های بیماری زا نسبت به داروها، پمپ افلاکس، دست یابی به مسیرهای متابولیک فرعی، تغییر گیرنده برای داروها و تولید آنزیم های تخریب کننده اشاره نمود(۱). از بین مکانیسم های فوق، تولید آنزیم های تخریب کننده داروها از مهم ترین روش ها برای کسب فاکتور مقاومت نسبت به داروها و آنتی‌بیوتیک‌ها است که سبب تخریب داروی فعال می شود. بخش قابل توجهی از ژن های کد کننده این آنزیم ها توسط عناصر متحرک ژنتیکی مانند پلاسمید، ترانسپوزون ها و باکتریوفاژ ها انتشار پیدا می کنند(۲). در سال های اخیر انتقال ژن های بسیاری از آنزیم های جدید توسط

www.SID.ir

Archive of SID

اینتگرون ها، توجه زیادی از پژوهش گران را به خود جلب نموده است.

اهمیت استفاده از گیاهان داروئی در درمان بیماری ها، جلوگیری و ممانعت از رشد باکتری های پاتوژن به خوبی شناخته شده است ولی با وجود تنوع بسیار زیادی که این نوع گیاهان چه در سطح جهانی و یا منطقه وکشور دارند و هم چنین ظهور بیماری ها و عوامل بیماری زای جدید مطالعه و تحقیق در این زمینه هم چنان ادامه دارد(۳).

چای تُرش یا چای قرمز با نام علمی *Hibiscus Sabdariffa* از کاس برگ این گیاه تهیه می شود و در بسیاری از مناطق دنیا به صورت نوشیدنی گرم و یا سرد مصرف دارد. چای ترش گیاهی یک ساله با بوته‌هایی به ارتفاع ۲ تا ۳ متر و برگ های ۳ و ۵ وجهی سبز مایل به زرد است. گل های آن زرد با کاس برگ‌های سبز که بعد از رسیدن میوه، کاس برگ‌ها به رنگ قرمز در می‌آید. در بعضی کشورها از الیاف ساقه‌های آن در تهیه وسایل استفاده می شود(۴).

با توجه به وجود اسید سیتریک و ویتامین C این گیاه دارای مزه ای ترش می باشد و از آنجا که این گیاه دارای مقادیر زیاد آنتوسیانین Anthocyaninsدر کاس برگ‌ها می باشد، لذا نقش مهمی در کاهش فشارخون و خواص ضد سرطانی آن دارد. تحقیقات زیادی در ارتباط با موثر بودن آن در کاهش فشارخون محیطی و ادرار آوری آن انجام شده است(۵)، اما در مورد اثر ضد میکروبی آن تاکنون تحقیقاتی چندانی صورت نپذیرفته است.

باکتری *سودوموناس آئروژینوزا* باسیل گرم منفی است که کلنی با رنگ فلئورسانت سبز با بوی آمیل الکل تولید می نماید. این باکتری با توجه به سیستم های خاص درونی خود از جمله سیستم انتقال مقاومت به آنتی بیوتیک به سرعت در مقابل آنتی بیوتیک های رایج درمانی مقاوم شده و باعث انتشار عفونت و سپتی سمی در بدن بیماران می شود(۶).

باکتری سالمونلا یکی از اعضاء خانواده آنتروباکتریاسه است که به صورت باسیل های گرم منفی تاژه دار هستند و اکثر سروتیپ های آن توانایی حرکت دارند. این جنس به صورت هوازی و یا بی هوازی اختیاری است(۷).

استافیلوکوکوس اورئوس بر روی غشاهای مخاطی و پوست پستانداران، مواد غذایی مختلف و محیط اطراف یافت می شود و عامل ایجاد ذات الریه بعد از عفونت های ویروسی، ورم پستان، التهاب وریدها، مننژیت، عفونت دستگاه ادراری، التهاب موضعی استخوان ها، اندوکاردیت، ضایعات سطحی پوست و غیره می باشد. *استافیلوکوکوس اورئو س* توکسین های پروتئینی خارج سلولی با وزن مولکولی کم و فاکتورهای بیماری زایی مختلفی را تولید می کند. این انتروتوکسین ها از لحاظ ساختار و فعالیت بیولوژیکی مشابه هم بوده، ولی خصوصیات آنتی ژنی آنها با یکدیگر متفاوت است(۸) .

مطالعه حاضر با هدف تعیین اثر ضد باکتریایی انواع عصاره های چای ترش بر تعدادی سویه بالینی عامل عفونت و مقایسه آن با آنتی بیوتیک های رایج درمانی در شرایط محیط کشت انجام پذیرفت.

روش کار

چای ترش از بازار محلی شهر مشهد جمع آوری و توسط محققین پژوهش کده گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد شناسایی و تایید شد. سپس توسط دستگاه آسیاب برقی خرد گردید. میزان ۲۰ گرم از گیاه چای ترش (که به طور معمول به صورت دم کرده در طب سنتی استفاده می شود) با ۱۰۰ سی سی اتانول، متانول و آب مقطر مخلوط گردید و به روش خیساندن (ماسراسیون) عصاره چای ترش استخراج شد. ماده خشک عصاره، بعد از اینکه توسط فیلتر سرنگی استریل شد، تحت شرایط سترون توسط آب مقطر استریل به حجم های مشخص رسانده شد و جهت بررسی فعالیت ضد میکروبی در محیط تاریک و در دمای ۴ درجه سانتی گراد در یخچال نگه داری شد(۹).

سویه های میکروبی شامل *استافیلوکوکوس اورئوس*، *سودوموناس ائروژینوزا* و *سالمونلا اینتریتدیس* جدا شده از بیماران مراجعه کننده به بیمارستان علوم پزشکی مشهد اخذ گردید. سویه های استاندارد از باکتری های فوق با کد شناسایی Staphylococcus aureus PTCC 1431، Pseudomonas aeruginosa PTCC 1561 و Salmonella enteritidis ATCC 13076 تهیه گردید. سویه های شناسایی شده در حد گونه با کمک روش های میکروسکوپی و بیوشیمیایی بررسی شد. بدین منظور از محیط های کشت اختصاصی هر گونه و روش های بیوشیمیایی مختص هر سوش باکتری استفاده شد.

برای انجام تست های ضد میکروبی از استاندارد CLSI سری M100-S 17و S 24 استفاده شد. حساسیت با کتری های مورد مطالعه به عصاره چای ترش با روش کربی- بوئر بررسی شد(۱۰). برای تهیه محلول ۰/۵ مک فارلند، ۹۹/۵ میلی لیتر اسید سولفوریک ۱٪ و ۰/۵ میلی لیتر کلرور باریم ۱/۱۷۵ ٪ به کار برده شد. محلول حاصل در طول موج ۶۲۵ نانومتر جذب معادل ۰/۰۸ - ۰/۱۳ داشت. محلول نیم مک فارلند حاصل کدورتی معادل با یک سوپانسیون باکتریایی معادل $۱۰^۸ \times ۱/۵$ ایجاد می کند(۱۱) .

پلیت ها برای ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه انکوباتور قرار داده شدند. هاله های شفاف عدم رشد در اطراف دیسک ها نشان گر فعالیت ضد باکتریایی عصاره ها می باشد(۱۲). بعد از گذشت زمان انکوباسیون این هاله های عدم رشد دقیقا اندازه گیری شدند. تمامی آزمایشات در سه تکرار انجام گردید. از دیسک آنتی بیوتیک های استاندارد جنتامایسین، کلیندامایسین و سفکسیم به عنوان کنترل استفاده گردید. پس از طی دوره گرما گذاری هاله های عدم رشد بررسی و قطر هاله های عدم رشد توسط خط کش اندازه گیری شد. از آزمون پور پلیت نیز برای ارزیابی فعالیت ضد میکروبی عصاره های چای ترش استفاده گردید سپس بر مبنای اینکه باکتری توانسته باشد در محیط حاوی غلظت مشخصی از عصاره چای ترش (۲ میلی گرم بر میلی لیتر) رشد کند و طبق استاندارد CLSI تفسیر صورت پذیرفت(۱۳).

آزمایش میکرودایلوشن، در پلیت های ۹۶ خانه استریل و برای تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی از رشد انجام پذیرفت. در این آزمون ابتدا از محیط کشت مولرهنیتون براث ۱۰۰ میکرولیتر داخل ۹۶ چاهک میکروپلیت ریخته شد. سپس به اولین چاهک هر ردیف ۱۰۰ میکرولیتر عصاره اضافه گردید. سپس از خانه دوم به سوم و به همین ترتیب تا خانه نهم رقیق شدند. در نهایت ۱۰۰ میکرولیتر سوسپانسیون میکروبی معادل لوله نیم مک فارلند به همه چاهک ها اضافه گردید. بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد وجود کدورت که نشان دهنده رشد یا عدم رشد باکتری بود تعیین شد. غلظت آخرین چاهک عدم رشد به عنوان حداقل غلظت مهار کننده از رشد در نظر گرفته شد. تمامی میکروپلیت ها جهت ارزیابی کدورت حاصل از رشد باکتری در طول موج ۶۲۰ نانومتر خوانده شد(۱۴)، هم چنین تمامی آزمایشات برای هر یک از عصاره ها به صورت جداگانه و در ۳ مرتبه تکرار گردید. برای تعیین میزان

www.SID.ir

Archive of SID

دقیق حداقل غلظت کشندگی *چای ترش* نیز از تمامی میکرو پلیت هایی که در آن کدورتی مشاهده نشده بود نمونه برداری شد و جهت تعیین حداقل غلظت کشندگی کشت داده شد(۱۴).

داده‌های حاصل به روش تجزیه واریانس یک طرفه با استفاده از نرم-افزار SPSS Ver 16 تجزیه و تحلیل آماری شد. برای مقایسه میانگین‌ها از روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد استفاده شد.

یافته ها

عصاره های متانولی و اتانولی در غلظت ۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بر تمامی باکتری های مورد بررسی (شامل سوش های بالینی و سوش های استاندارد) کاملا موثر بوده و در این غلظت توانست از رشد باکتری های مذکور جلوگیری نماید. نتایج نشان دهنده عدم جلوگیری از رشد عصاره آبی چای ترش بر باکتری گرم منفی سالمونلا اینتریتدیس و سودوموناس ائروژینوزا بود. به طوری که در غلظت ۲ میلی گرم بر میلی لیتر باکتری های مذکور روی محیط کشت رشد کردند(جدول ۱).

غلظت ۴۰ میلی گرم بر میلی‌لیتر از عصاره‌های آبی و غلظت های ۳۰ و ۴۰ میلی گرم بر میلی لیتر عصاره متانولی و اتانولی دارای اثر ضد میکروبی قابل توجهی روی باکتری ها داشت. تاثیر عصاره ها با کم شدن غلظت آن ها در دیسک، کم شد. عصاره های الکلی در تمامی غلظت ها دارای اثر مهاری روی رشد باکتری های Staphylococcus aureus PTCC 1431، Pseudomonas aeruginosa PTCC 1561 و Salmonella enteritidis ATCC 13076 بود(جدول ۲).

عصاره اتانولی چای ترش دارای قطر هاله معادل ۰/۵۰ ± ۲۰/۱۶در غلظت ۴۰ میلی گرم بر میلی لیتر بر سودوموناس ائروژینوزا بود. در این مطالعه باکترهای استافیلوکوکوس اورئوس و سالمونلا اینتریتدیس به ترتیب بیش ترین و کم ترین حساسیت را به عصاره های چای ترش نشان دادند.

عصاره آبی در تمامی غلظت‌ها روی Staphylococcus aureus PTCC 1431 و در غلظت‌های ۳۰ و ۴۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر روی Pseudomonas aeruginosa PTCC 1561 و Salmonella enteritidis ATCC 13076 دارای اثر بازدارندگی بود. هم چنین مشاهد شد به جز درغلظت‌های ۳۰ با ۴۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره آبی بر روی Salmonella enteritidis ATCC 13076 و غلظت ۲۰ با ۳۰ میلی گرم بر میلی لیتر عصاره آبی بر باکتری Staphylococcus aureus PTCC 1431 در بقیه موارد اختلاف میانگین قطر عدم رشد (به صورت دو به دو) با هم معنی‌دار می‌باشد. در مقایسه دو به دو میان غلظت‌های عصاره‌های متانولی و اتانولی بر Staphylococcus aureus PTCC 1431، Pseudomonas aeruginosa PTCC 1561 و Salmonella enteritidis ATCC 13076 نیز هاله بازدارندگی مشاهده شد. مقایسه دو به دو میانگین‌های قطر هاله عدم رشد در مورد عصاره های متانولی و اتانولی بر باکتری‌های مورد بررسی نشان داد که در تمامی غلظت‌ها، میانگین قطر عدم رشد اختلاف معنی‌دار دارند. بر اساس نتایج حاصل از این آزمون دانکن مشاهده شد هم در مورد عصاره اتانولی، متانولی و آبی که غلظت موثر ۴۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. تفاوت معنی‌دار میانگین قطر عدم رشد غلظت‌های مختلف را می‌توان به میزان استحصال عصاره از گیاه چای ترش در رابطه با نوع حلال به کار رفته شده جهت استخراج عصاره مرتبط دانست. ولی به طوری کلی می‌توان نتیجه گرفت که با افزایش غلظت میزان قطر هاله عدم رشد افزایش پیدا می‌کند(جدول ۲). نتایج مربوط به تاثیر سه آنتی بیوتیک رایج بر میزان هاله عدم رشد بر Staphylococcus aureus PTCC 1431، Pseudomonas aeruginosa PTCC 1561 و Salmonella enteritidis ATCC 13076 در جدول ۳ آورده شده است.

در روش میکروپلیت دایلوشن، حداقل غلظت مهار کننده رشد برای باکتری های Staphylococcus aureus PTCC 1431، Pseudomonas aeruginosa PTCC 1561 و Salmonella enteritidis ATCC 13076 جهت تعیین کدورت چاهک ها قرائت گردید. سالمونلا اینتریتدیس بین سوش های مورد آزمون بیشترین MIC و MBC را داشت(جدول ۴).

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱- اثر ضد میکروبی غلظت ۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره‌های متانولی، اتانولی و آبی چای ترش به روش پور پلیت بر Staphylococcus aureus PTCC 1431، Pseudomonas aeruginosa PTCC 1561 و Salmonella enteritidis ATCC 13076

میکروارگانیسم	عصاره آبی	عصاره متانولی	عصاره اتانولی
استافیلوکوکوس اورئوس استاندارد	S	S	S
سودوموناس ائروژینوزا استاندارد	R	IM	IM
سالمونلا اینتریتدیس استاندارد	R	R	R
استافیلوکوکوس اورئوس بالینی	S	S	S
سودوموناس ائروژینوزا بالینی	R	S	S
سالمونلا اینتریتدیس بالینی	R	R	R

نیمه حساس :IM ,حساس :S , مقاوم :R

www.SID.ir

Archive of SID

جدول۲- میانگین قطر هاله عدم رشد عصاره‌های متانولی، اتانولی و آبی چای ترش به روش کربی- بوئر بر Staphylococcus aureus PTCC 1431، Pseudomonas aeruginosa PTCC 1561 و Salmonella enteritidis ATCC 13076

نوع عصاره	میکروارگانیسم		غلظت عصاره چای ترش (میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)			
			۱۰	۲۰	۳۰	۴۰
اتانولی	*استافیلوکوکوس اورئوس*	استاندارد	^{a}۰/۵۰±۱۳/۲۰	^{b}۰/۵۴±۱۵/۳۰	^{c}۰/۲۸±۲۰/۴۰	^{d}۰/۵۰±۲۵/۹۰
اتانولی	*سودوموناس ائروژینوزا*	استاندارد	^{a}۰/۵۲±۱۰/۵۰	^{b}۰/۵۷±۱۲/۸۰	^{c}۰/۵۲±۱۶/۱۰	^{d}۰/۵۰±۲۰/۲۰
اتانولی	*سالمونلا اینتریتدیس*	استاندارد	^{a}۰/۵۰±۹/۲۰	^{b}۰/۴۵±۱۱/۴۰	^{c}۰/۵۴±۱۴/۸۰	^{d}۰/۵۷±۱۸/۱۰
متانولی	*استافیلوکوکوس اورئوس*	استاندارد	^{a}۰/۵۰±۱۱/۹۰	^{b}۰/۵۷±۱۴/۵۰	^{c}۰/۵۷±۱۷/۳۰	^{d}۰/۵۰±۲۱/۴۰
متانولی	*سودوموناس ائروژینوزا*	استاندارد	^{a}۰/۵۲±۱۰/۰۰	^{b}۰/۵۰±۱۲/۲۰	^{c}۰/۵۰±۱۵/۳۰	^{d}۰/۵۰±۱۷/۲۰
متانولی	*سالمونلا اینتریتدیس*	استاندارد	^{a}۰/۵۲±۸/۱۰	^{b}۰/۵۰±۱۰/۲۰	^{c}۰/۵۷±۱۳/۱۰	^{d}۰/۵۰±۱۵/۹۰
آبی	*استافیلوکوکوس اورئوس*	استاندارد	^{a}۰/۵۴±۹/۳۰	^{b}۰/۴۵±۱۴/۵۰	^{b}۰/۵۷±۱۵/۵۰	^{c}۰/۵۰±۱۷/۴۰
آبی	*سودوموناس ائروژینوزا*	استاندارد	-	-	^{c}۰/۵۰±۱۲/۰۰	^{d}۰/۵۰±۱۴/۰۰
آبی	*سالمونلا اینتریتدیس*	استاندارد	-	-	^{c}۰/۵۰±۱۱/۵۰	^{c}۰/۵۰±۱۲/۷۰
اتانولی	*استافیلوکوکوس اورئوس*	بالینی	^{a}۰/۵۰±۱۲/۷۰	^{b}۰/۵۴±۱۴/۳۰	^{c}۰/۲۸±۱۷/۳۰	^{d}۰/۵۰±۲۱/۵۰
اتانولی	*سودوموناس ائروژینوزا*	بالینی	^{a}۰/۵۲±۹/۰۰	^{b}۰/۵۷±۱۲/۰۰	^{c}۰/۵۲±۱۵/۳۰	^{d}۰/۵۰±۱۸/۲۰
اتانولی	*سالمونلا اینتریتدیس*	بالینی	^{a}۰/۵۰±۸/۱۰	^{b}۰/۴۵±۱۰/۶۰	^{c}۰/۵۴±۱۲/۹۰	^{d}۰/۵۷±۱۶/۴۰
متانولی	*استافیلوکوکوس اورئوس*	بالینی	^{a}۰/۵۰±۱۰/۵۰	^{b}۰/۵۷±۱۲/۵۰	^{c}۰/۵۷±۱۵/۱۰	^{d}۰/۵۰±۱۸/۵۰
متانولی	*سودوموناس ائروژینوزا*	بالینی	^{a}۰/۵۲±۸/۹۰	^{b}۰/۵۰±۱۰/۶۰	^{c}۰/۵۰±۱۳/۶۰	^{d}۰/۵۰±۱۵/۳۰
متانولی	*سالمونلا اینتریتدیس*	بالینی	^{a}۰/۵۲±۷/۶۰	^{b}۰/۵۰±۹/۵۰	^{c}۰/۵۷±۱۲/۰۰	^{d}۰/۵۰±۱۴/۰۰
آبی	*استافیلوکوکوس اورئوس*	بالینی	^{a}۰/۵۴±۸/۳۰	^{b}۰/۴۵±۱۰/۷۰	^{c}۰/۵۷±۱۳/۱۰	^{d}۰/۵۰±۱۵/۴۰
آبی	*سودوموناس ائروژینوزا*	بالینی	-	-	^{c}۰/۵۰±۱۱/۱۰	^{d}۰/۵۰±۱۳/۰۰
آبی	*سالمونلا اینتریتدیس*	بالینی	-	-	-	^{d}۰/۵۰±۱۲/۷۰

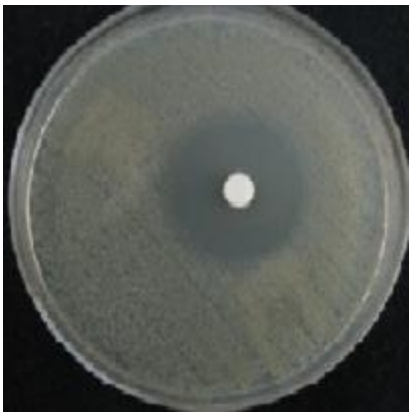
- علامت (-) نشان دهنده عدم وجود فعالیت ضد باکتری عصاره چای ترش می‌باشد.
- حروف غیر مشابه در یک ردیف نشان‌دهنده وجود تفاوت معنی‌دار ($p\leq$ ۰/۰۵) میان اثر ضد میکروبی غلظت‌های مختلف می‌باشد.
- حروف مشابه در یک ردیف نشان‌دهنده عدم وجود تفاوت معنی‌دار ($p\leq$ ۰/۰۵) میان اثر ضد میکروبی غلظت‌های مختلف می‌باشد.

جدول۳- میانگین قطر هاله عدم رشد سه آنتی بیوتیک رایج بر Staphylococcus aureus ، Pseudomonas aeruginosa و Salmonella enteritidis بر حسب میلی‌متر (کربی - بوئر)

آنتی بیوتیک	میکروارگانیسم		
	سالمونلا اینتریتدیس	*سودوموناس ائروژینوزا*	*استافیلوکوکوس اورئوس*
کلیندامایسین	۱۲	۱۶	۱۷/۲
سفکسیم	۱۶	۲۰	۱۹
جنتامایسین	۱۰	۱۲	۱۳

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۱- نمونه ای از هاله بازدارندگی عصاره آبی چای ترش بر استافیلوکوکوس اورئوس

جدول۴- نتایج حداقل غلظت مهارکنندگی رشد (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) عصاره‌های متانولی، اتانولی و آبی چای ترش به روش کربی- بوئر بر Staphylococcus aureus PTCC 1431، Pseudomonas aeruginosa PTCC 1561 و Salmonella enteritidis ATCC 13076

عصاره	میکروارگانیسم		MIC (mg/ml)	MBC (mg/ml)	کنترل -	کنترل +
اتانولی	*استافیلوکوکوس اورئوس*	استاندارد	۴	۴	-	+
اتانولی	*سودوموناس ائروژینوزا*	استاندارد	۱۶	۳۲	-	+
اتانولی	*سالمونلا اینتریتدیس*	استاندارد	۳۲	۳۲	-	+
متانولی	*استافیلوکوکوس اورئوس*	استاندارد	۴	۸	-	+
متانولی	*سودوموناس ائروژینوزا*	استاندارد	۳۲	۶۴	-	+
متانولی	*سالمونلا اینتریتدیس*	استاندارد	۶۴	۶۴	-	+
آبی	*استافیلوکوکوس اورئوس*	استاندارد	۱۶	۳۲	-	+
آبی	*سودوموناس ائروژینوزا*	استاندارد	۶۴	۱۲۸	-	+
آبی	*سالمونلا اینتریتدیس*	استاندارد	۱۲۸	۲۵۶	-	+
اتانولی	*استافیلوکوکوس اورئوس*	بالینی	۸	۱۶	-	+
اتانولی	*سودوموناس ائروژینوزا*	بالینی	۳۲	۶۴	-	+
اتانولی	*سالمونلا اینتریتدیس*	بالینی	۳۲	۶۴	-	+
متانولی	*استافیلوکوکوس اورئوس*	بالینی	۸	۱۶	-	+
متانولی	*سودوموناس ائروژینوزا*	بالینی	۶۴	۱۲۸	-	+
متانولی	*سالمونلا اینتریتدیس*	بالینی	۶۴	۱۲۸	-	+
آبی	*استافیلوکوکوس اورئوس*	بالینی	۱۶	۳۲	-	+
آبی	*سودوموناس ائروژینوزا*	بالینی	۱۲۸	۱۲۸	-	+
آبی	*سالمونلا اینتریتدیس*	بالینی	۱۲۸	۲۵۶	-	+

www.SID.ir

Archive of SID

بحث

با توجه به مقاومت انواع باکتری های عامل عفونت به طیف گسترده ای از آنتی بیوتیک ها رایج درمانی تلاش های زیادی جهت استفاده از موادموثره و طبیعی گیاهان بویژه گیاهان دارویی در درمان بیماری های انسان صورت گرفته است(۱۵). در این مطالعه مقایسه اثر ضد باکتریایی عصاره های اتانولی، متانولی و آبی چای ترش با هاله تشکیل شده توسط دیسک های آنتی بیوتیک بررسی شد.

با گسترش شاخه های مختلف علوم، استفاده از مواد شیمیایی در تولید دارو، توجه محققین را به خود معطوف کرد، اما دیری نپایید که عوارض و ناکارآمدی این داروها دانشمندان را مجدداً مجبور به استفاده از ترکیبات گیاهی و طبیعی در درمان بیماری ها مختلف نمود(۱۶). نتایج این مطالعه نشان داد که عصاره های متانولی، اتانولی و آبی چای ترش به خوبی مانع از رشد سویه های بالینی و استاندار باکتری های استافیلوکوکوس اورئوس، سودوموناس ائروژینوزا و سالمونلا اینتریتدیس شده و از رشد آن ها به طور موثری جلوگیری می نماید. نتایج نشان داد قطر هاله عدم رشد عصاره اتانولی چای ترش بر باکتر های استاندارد استافیلوکوکوس اورئوس، سودوموناس ائروژینوزا و سالمونلا اینتریتدیس در غلظت ۴۰ میلی گرم بر میلی لیتر به ترتیب ۲۵/۹۰±/۵۰، ۲۰/۲۰±/۵۰ و ۱۸/۱۰±/۵۷ بود که در مقایسه با سویه های بالینی بیشتر بود، دلیل این امر را شاید بتوان با توجه شرایط رشد میکروارگانیسم های بالینی بیان نمود.

مقایسه بین اثر ضد میکروبی عصاره اتانولی و متانولی چای ترش در برابر هر سه آنتی بیوتیک رایج درمانی نشان داد که اثر ضد میکروبی بر *استافیلوکوکوس اورئوس* در بالاترین غلظت حداکثر بود و این میزان به ترتیب۰/۵۰ ± ۲۵/۹۰، ۲۱/۴۰±/۵۰ و جدول (۲) بدست آمد و این میزان بازدارندگی از تمامی آنتی بیوتیک‌ها بیش تر اما در رابطه با عصاره آبی هاله بازدارندگی ۱۷/۴۰±/۵۰ گزارش شد که این هاله عدم رشد تنها از آنتی بیئتیک سفکسیم کم تر بود.

اثر ضد میکروبی عصاره اتانولی به روش کربی - بوئر بر *سودوموناس ائروژینوزا و سالمونلا اینتریتدیس* از سه آنتی بیوتیک (جنتامایسین، کلیندامایسین و سفکسیم) بیش تر بود و *در مورد عصاره متانولی* هاله بازدارندگی از دو آنتی بیوتیک (جنتامایسین، کلیندامایسین) بیش تر و از آنتی بیوتیک سفکسیم کم تر بود. مصرف زیاد و فراوان عوامل ضد میکروبی همانند آنتی بیوتیک‌ها منجر به ظهور مقاومت باکتری به آنتی بیوتیک های رایج درمانی می گردد.

مقایسه اثر ضد میکروبی عصاره آبی چای ترش بر روی هر سه باکتری مورد مطالعه در این پژوهش نشان داد که این عصاره دارای کم ترین اثر ضد میکروبی می باشد و در مقایسه با آنتی بیوتیک های رایج درمانی دارای هاله بازدارندگی به مراتب کم تری می باشد. محبی و هم کاران (۱۳۹۳) اثر ضد میکروبی آلوئه ورا و کیتوزان بر باکترهای *استرپتوکوکوس پیوژنز، کلبسیلا پنومونیه، استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشرشیا کلی* و مقایسه آن با انواع آنتی بیوتیک‌های رایج درمانی در شرایط آزمایشگاهی بررسی کردند. نتایج این پژوهش گران نشان داد که بیش ترین قطر هاله عدم رشد در غلظت مربوط به باکتری گرم مثبت *استرپتوکوکوس پیوژنز* و کم ترین قطر هاله در این غلظت مربوط به باکتری گرم منفی *کلبسیلا پنومونیه* بود. هم چنین این پژوهش گران بیان داشتند که مقایسه بین اثر ضد میکروبی آلوئه ورا در برابر آنتی بیوتیک رایج نشان داد که اثر ضد میکروبی بر *استرپتوکوکوس پیوژنز* در بالاترین غلظت حداکثر بود و این میزان بازدارندگی از تمامی آنتی بیوتیک‌ها به جز آنتی بیوتیک سیپروفلوکساسین بیشتر بود(۱۷)، یافته های این مطالعه با یافته های ما هم خوانی دارد.

تفاوت در اثر ضد میکروبی عصاره های گیاهی بر باکتری ها به عوامل مختلفی وابسته است که از جمله می توان به منطقه جغرافیایی رویش، روش خشک کردن گیاه ، روش استخراج ترکیبات موثره، نوع حلال ، غلظت عصاره و نوع محیط کشت اشاره نمود(۱۸). نتایج این مطالعه بیان گر این مطلب بود که اثر ضد میکروبی عصاره اتانولی حداکثر بود و بعد از آن عصاره متانولی چای ترش و در انتها عصاره آبی دارای بیش ترین اثر ضد میکروبی بودند، همان گونه که در بالا ذکر شد شاید بتوان دلیل این امر را به تفاوت در حلال به کار رفته جهت استخراج چای ترش بیان نمود بنحوی که در رابطه با حلال اتانول به طور موثری ترکیبات استخراج شده که دارای اثر ضد میکروبی هستند از حلال های متانول و آب بیش تر بوده است. تحقیقات گسترده ای تئوری فوق را تایید نموده اند، به طوری که طباطبایی یزدی و هم کاران اثر فعالیت آنتی باکتریایی عصاره های متانولی، دی کلرومتانی، آبی و هیدروالکلی *قره قات* (*Ribes rubrum*) بر *باسیلوس سرئوس، باسیلوس سوبتلیس، لیستریا اینوکوا* و *انتروباکتر ائروژینوزا* در شرایط آزمایشگاهی را مورد بررسی قرار دادند نتایج این پژوهش گران نشان داد که اثر ضد میکروبی عصاره متانولی قره قات به مراتب از بقیه عصاره بیش تر بود و عصاره آبی قره قات دارای کم ترین اثر ضد میکروبی بود. هم چنین نتایج این پژوهش گران نشان دادند که اثر ضد میکروبی عصاره قره قات بر باکترهای گرم مثبت از باکترهای گرم منفی بیش تر است(۱۹)، یافته های این محققان با نتایج این مطالعه هم خوانی دارد.

مقایسه دو به دو میانگین‌های قطر هاله عدم رشد در مورد عصاره های متانولی و اتانولی بر باکتری‌های مورد بررسی نشان داد که در تمامی غلظت‌ها، میانگین قطر عدم رشد اختلاف معنی‌دار دارند. بر اساس نتایج حاصل از این آزمون دانکن مشاهده شد هم در مورد عصاره اتانولی، متانولی و آبی که غلظت موثر ۴۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. تفاوت معنی‌دار میانگین قطر عدم رشد غلظت‌های مختلف را می‌توان به میزان استحصال عصاره از گیاه چای ترش در رابطه با نوع حلال به کار رفته شده جهت استخراج عصاره مرتبط دانست. ولی به طوری کلی می‌توان نتیجه گرفت که با افزایش غلظت میزان قطر هاله عدم رشد افزایش پیدا می‌کند(جدول ۲).

نتایج این مطالعه نشان داد که MIC عصاره اتانولی چای ترش برای باکتری‌های Staphylococcus aureus ، Pseudomonas aeruginosa و Salmonella enteritidis *به ترتیب* ۴، ۱۶ و ۳۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و MIC عصاره متانولی برای باکتری‌های Staphylococcus aureus ، Pseudomonas aeruginosa و Salmonella enteritidis *به ترتیب* ۴، ۳۲ و ۶۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. هم چنین عصارهMIC عصاره آبی چای ترش برای باکتری های فوق به ترتیب ۱۶، ۶۴ و ۱۲۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. MBC عصاره اتانولی چای ترش برای باکتری‌های Staphylococcus aureus ، Pseudomonas aeruginosa و Salmonella enteritidis *به ترتیب* ۴، ۳۲ و ۳۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و MBC عصاره متانولی برای

www.SID.ir

Archive of SID

باکتری‌های Staphylococcus aureus ، Pseudomonas aeruginosa و Salmonella enteritidis *به ترتیب* ۸، ۶۴ و ۶۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. هم چنین عصارMBC عصاره آبی چای ترش برای باکتری های فوق به ترتیب ۳۲، ۱۲۸ و ۲۵۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. سالمونلا اینتریتدیس بین سوش های مورد آزمون بیش ترین MIC و MBC را داشت. ساهین و هم کاران (۲۰۰۴) اثر ضد میکروبی مرزنگوش بر روی 10 باکتری از جمله باسیل ها، سالمونلا و استافیلوکوکوس و تعدادی از قارچ های بیماری زا بررسی کردند. نتایج این پژوهشگران نشان داد که اثر ضد میکروبی مرزنگوش بر باکتری های استافیلوکوکوس و باسیل ها بیشتر از باکتری سالمونلا می باشد(۲۰)، یافته های این پژوهش گران با یافته های پژوهش حاضر هم خوانی داشت.

در مطالعه ای که به طور همزمان توسط طباطبایی یزدی و هم کاران (۱۳۹۳) در مورد بررسی اثر آنتی باکتریال عصاره های آبی و اتانولی چای ترش (*Hibiscus Sabdariffa*) علیه سوش های *اشرشیا کلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به آنتی بیوتیک در شرایط آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گرفت، مشخص گردید *اشرشیا کلی* به ترتیب مقاوم به آنتی بیوتیک های پنی سیلین (۷۵/۹)، اریترومایسین (۵۸/۳)، تتراسیکلین (۵۶/۹) و سفکسیم (۳۷) درصد و برای *استافیلوکوکوس اورئوس* به ترتیب پنی سیلین (۸۳/۵)، سفکسیم (۸۰) اریترومایسین (۵۵/۶) و تتراسیکلین (۲۶/۱) درصد بودند. نتایج این مطالعه بیانگر تاثیر مطلوب عصاره اتانولی چای ترش بر سویه های *اشرشیا کلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به آنتی بیوتیک بود(۲۱).

نتیجه گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که عصاره‌های متانولی، اتانولی و آبی چای ترش دارای فعالیت ضد میکروبی قوی علیه میکروب های مورد بررسی در این پژوهش بود. اگرچه کاربرد بالینی عصاره ها و اسانس های گیاهی در شرایط خاص امکان پذیر است ولی به نظر می رسد کاربرد بالینی عصاره های چای ترش مستلزم مطالعات وتحقیقات بیش تری در زمینه مکانیسم عمل این متابولیت ها به ویژه درزمینه باز دارندگی عوامل میکروبی و بروز اشکال مقاوم باکتریایی لذا می توان با انجام مطالعات بیش تر بر روی اثر ضد میکروبی این گیاه بر روی موش ها در آینده از عصاره چای ترش به عنوان یک داوری طبیعی در جهت درمان بیماری های عفونی بهره برد.

تقدیر و تشکر

مقاله علمی ـ پژوهشی حاضر مستخرج از طرح پژوهشی با کد ۲/۳۲۲۰۸ مصوب در دانشگاه فردوسی مشهد می باشد. نویسندگان مقاله بر خود لازم می دانند که از معاونت پژوهشی دانشگاه فردوسی مشهد به دلیل مساعدت‌های مالی جهت اجرای این طرح پژوهشی صمیمانه تشکر و قدردانی نمایند.

REFERENCES

1- Mahesh B, Satish S. Antimicrobial activity of some important medicinal plant against plant and human pathogens. World Journal of Agricultural Sciences. 2008; 4(5):839-43.

2- Severino P, Magalhães VD. The role of integrons in the dissemination of antibiotic resistance among clinical isolates of Pseudomonas aeruginosa from an intensive care unit in Brazil. Research in Microbiology. 2002; 153(4):221.

3- Igbinosa O, Igbinosa E, Aiyegoro O. Antimicrobial activity and phytochemical screening of stem bark extracts from Jatropha curcas (Linn). African Journal of Pharmacy and Pharmacology. 2009; 3(2):058-62.

4- Tsai P-J, McIntosh J, Pearce P, Camden B, Jordan BR. Anthocyanin and antioxidant capacity in Roselle (Hibiscus Sabdariffa L.) extract. Food Research International. 2002; 35(4):351-6.

5- Chen C-C, Hsu J-D, Wang S-F, Chiang H-C, Yang M-Y, Kao E-S, et al. Hibiscus sabdariffa extract inhibits the development of atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2003; 51(18):5472-7.

www.SID.ir

Archive of SID

6- Oliver A, Cantón R, Campo P, Baquero F, Blázquez J. High frequency of hypermutable Pseudomonas aeruginosa in cystic fibrosis lung infection. Science. 2000; 288(5469):1251-3.

7-

8- McClelland M, Sanderson KE, Spieth J, Clifton SW, Latreille P, Courtney L, et al. Complete genome sequence of Salmonella enterica serovar Typhimurium LT2. Nature. 2001; 413(6858):852-6.

9- Control CfD, Prevention. Staphylococcus aureus resistant to vancomycin--United States, 2002. MMWR Morbidity and Mortality Weekly Report. 2002; 51(26):565.

10- Ponce AG, Roura SI, del Valle CE, Moreira MR. Antimicrobial and antioxidant activities of edible coatings enriched with natural plant extracts: In vitro and in vivo studies. Postharvest Biology and Technology. 2008; 49(2):294-300.

11- Jones RN, Ballow CH, Biedenbach DJ. Multi-laboratory assessment of the linezolid spectrum of activity using the Kirby-Bauer disk diffusion method: Report of the Zyvox Antimicrobial Potency Study (ZAPS) in the United States. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease. 2001; 40(1):59-66.

12- Alizadeh Behbahani B, Tabatabaei Yazdi F, Heidari Sureshjani M, Mortazavi A, Tabatabaei Yazdi F. Antimicrobial effect of the aqueous and ethanolic Satureja bachtiarica extracts "in vitro", Iranian Journal of Infectious Diseases and Tropical Medicine. 2014; 19(64): 13-19.

13- Tabatabaei Yazdi F, Heidari Sureshjani M, Alizadeh Behbahani B. Antimicrobial effects of aqueous and ethanolic extracts of Ferulago angulata on Staphylococcus aureus, Bacillus cereus and *Salmonella typhi* "in vitro". Iranian Journal of Infectious Diseases and Tropical Medicine. 2014; 19(65): 25-31.

14- Sartoratto A, Machado ALM, Delarmelina C, Figueira GM, Duarte MCT, Rehder VLG. Composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants used in Brazil. Brazilian Journal of Microbiology. 2004; 35(4):275-80.

15- Wiegand I, Hilpert K, Hancock RE. Agar and broth dilution methods to determine the minimal inhibitory concentration (MIC) of antimicrobial substances. Nature Protocols. 2008; 3(2):163-75.

16- Nascimento GG, Locatelli J, Freitas PC, Silva GL. Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic-resistant bacteria. Brazilian Journal of Microbiology. 2000; 31(4):247-56.

17- Rauha J-P, Remes S, Heinonen M, Hopia A, Kähkönen M, Kujala T, et al. Antimicrobial effects of Finnish plant extracts containing flavonoids and other phenolic compounds. International Journal of Food Microbiology. 2000; 56(1):3-12.

18- Mohebbat Mohebbi M, Alizadeh Behbahani B, Ansarifar E, Noshad M. Antimicrobial effect of *Aloe vera* and Chitosan on some pathogenic bacteria and comparing it with common therapeutic antibiotics "*in vitro*". Iranian Journal of Infectious Diseases and Tropical Medicine. 2015; 19(67).

www.SID.ir

Archive of SID

19- Dorman H, Deans S. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. Journal of Applied Microbiology. 2000; 88(2):308-16.

20- Tabatabaei Yazdi F, Alizadeh Behbahani B, Vasiee A, Alghooneh A. Exploration of antibacterial activity extracts of *Ribes rubrum* against *Bacillus cereus, Bacillus subtilis, Listeria innocua* and *Enterobacter aeruginosa* "in vitro". Iranian Journal of Infectious Diseases and Tropical Medicine. 2015; 20(68).

21- Şahin F, Gulluce M, Daferera D, Sokmen A, Sokmen M, Polissiou M, et al. Biological activities of the essential oils and methanol extract of Origanum vulgare ssp. Vulgare in the Eastern Anatolia region of Turkey. Food Control. 2004; 15(7):549-57.

22- Farideh Tabatabaei Yazdi, Behrooz Alizadeh Behbahani, Alireza Vasiee, Seyed Ali Mortazavi, Samira Moradi, Forouzan Tabatabaei Yazdi, Sara Jafarian. Investigation of the ethanolic and aqueous extract antibacterial effect of Hibiscus Sabdariffa against strains of antibiotic resistance Escherichia coli and Staphylococcus aureus. Qom Univ Med Sci J. In Review.

www.SID.ir