

## اثر ضد باکتریایی عصاره گیاه شنگ بر استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس، باسیلوس سوبتیلیس، اشرشیا کلی و سالمونلا تیفی در شرایط آزمایشگاهی

فخری شهیدی<sup>۱\*</sup>، فریده طباطبایی یزدی<sup>۱</sup>، بهروز عزیزاده بهبهانی<sup>۲</sup>، سحر روشنگر<sup>۳</sup>، ندا نوروزی<sup>۳</sup>، علیرضا وسیعی<sup>۳</sup>

۱-استاد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

۲- استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاتانی، ایران

۳- دانشجوی دکتری گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

\*نشانی برای مکاتبه: fshahidi@um.ac.ir

پذیرش برای چاپ: دی نود و هفت

دریافت مقاله: آبان نود و هفت

### چکیده

**سابقه و هدف:** گیاه شنگ با نام علمی *Tragopogon graminifolius* متعلق به خانواده آستراسه می باشد. در طب سنتی از گیاه شنگ برای درمان زخم های گوارشی، اختلالات کبدی، خونریزی، عفونت ریوی و زخم ها استفاده می شود. هدف از انجام این پژوهش، بررسی اثر ضد باکتریایی عصاره گیاه شنگ بر استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس، باسیلوس سوبتیلیس، اشرشیا کلی و سالمونلا تیفی در شرایط آزمایشگاهی بود.

**روش کار:** در این مطالعه تجربی، از روش های دیسک دیفیوژن و چاهک آگار (قطر هاله عدم رشد)، حداقل غلظت مهارکنندگی (میکرودایلوشن برات) و معرف تری فنیل تترازویلیوم کلراید) و حداقل غلظت کشندگی (پورپلیت) برای ارزیابی فعالیت ضد میکروبی عصاره گیاه شنگ بر استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس، باسیلوس سوبتیلیس، اشرشیا کلی و سالمونلا تیفی استفاده شد.

یافته ها قطر هاله عدم رشد با افزایش غلظت های عصاره شنگ افزایش یافت. بیشترین قطر هاله عدم رشد در روش چاهک آگار با قطر ۲۲ میلی متر مربوط به باکتری استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس بود. حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره آبی گیاه شنگ برای استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس، باسیلوس سوبتیلیس، سالمونلا تیفی و اشرشیا کلی به ترتیب برابر با ۶۴، ۲۵۶، ۲۵۶ و ۲۵۶ بود.

**نتیجه گیری:** عصاره گیاه شنگ دارای اثر ضد باکتریایی مناسبی بر سویه های مورد بررسی داشت. پیشنهاد می گردد برای استفاده از این گیاه، مطالعات بیشتری در شرایط *in vivo* و *in vitro* انجام گیرد تا بتوان از این گیاه برای درمان بیماری های عفونی و کنترل رشد میکروارگانیسم های بیماری زا استفاده نمود.

**واژگان کلیدی:** گیاه شنگ، باکتری های بیماری زا، عصاره گیری، اثر ضد میکروبی

### مقدمه

می گردند شامل: تغییر پروتئین هدف از طریق جهش یا فعال سازی آنزیمی، کسب ژن از سایر گونه های باکتری که کد کننده پروتئین های هدف با حساسیت پایین تر می باشند و کاهش حساسیت با پوشش دهی پروتئین هدف یا بیرون راندن ترکیبات ضد میکروبی از سلول انجام می گیرد. این سازگاری ها در میکروارگانیسم های حساس، می تواند در نتیجه جهش ها و یا از طریق انتقال افقی ژن به وجود آید که در درجه اول با استفاده از عناصر ژنتیکی متحرک

بر اساس آمار منتشر شده از مرکز کنترل بیماری امریکا سالیانه میکروارگانیسم های بیماری زا سبب بروز حدود ۷۶ میلیون مورد بیماری های ناشی از مواد غذایی می شوند. میکروارگانیسم های عامل عفونت و مسمومیت به وسیله سازوکارهای مختلفی نسبت به داروهای ضد میکروبی و آنتی بیوتیک های رایج درمانی مقاوم می شوند (۱). ایجاد مقاومت میکروارگانیسم ها نسبت به عوامل مختلف ضد میکروبی، به عنوان پاسخ مستقیم نسبت به فرار گرفتن در معرض عوامل ضد میکروبی به عنوان یک واقعیت به اثبات رسیده است. سازوکارهایی که باعث مقاومت میکروارگانیسم های بیماری زا

گیاه شنگ اکثراً در اوایل بهار و تابستان رشد کرده و اغلب دو یا چندساله هستند. برگ‌های انواع گیاه شنگ به شکل کامل، خطی، باریک و اغلب سرنیزه‌ای هستند. حدود ۲۵ نوع شنگ در ایران وجود دارد و برخی از گونه‌های آن منحصراً در کشور ایران وجود دارد. شنگ نی مانند (*Tragopogon caricifolius*)، شنگ میوه خاردار (*Tragopogon acanthocarpus*) و شنگ بی‌سیخک (*Tragopogon erostris*) از جمله گیاهانی هستند که در ایران وجود دارند (۵). بخش‌های هوایی این گیاه در طب سنتی ایرانی به دلیل فعالیت‌های قابض کننده، ضد عفونی کننده، ضد التهاب، دفع سموم، ضد خونریزی و التیام زخم همچنین تقویت معده و کبد و درمان زخم‌های گوارشی، اختلالات کبدی، خونریزی، عفونت ریوی و زخم‌ها استفاده می‌شوند. این گیاه به طور وسیعی در غرب ایران به عنوان سبزی تازه در مواد غذایی و سالادها و همچنین اهداف درمانی مصرف می‌شود (۷و۶).

هدف از انجام این پژوهش، تعیین اثر ضد میکروبی عصاره برگ گیاه شنگ بر *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس*، *باسیلوس سوبتیلیس*، *اشرشیا کلی* و *سالمونلا تیفی* به روش‌های متنوع کیفی و کمی در شرایط آزمایشگاهی بود.

#### روش کار

در این پژوهش تجربی، گیاه شنگ از مراتع کوه‌های زاگرس شهرکرد (چهارمحال و بختیاری) جمع آوری و به گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد انتقال یافت. گیاه شنگ با همکاری هرباریوم و آزمایشگاه سیستماتیک گیاهی پژوهشکده علوم گیاهی، دانشگاه فردوسی مشهد و به شماره نامه (۱۴۷ هـ) توسط جناب آقای مهندس جوهرچی شناسایی و تعیین جنس و گونه شد.

پس از تایید نام علمی گیاه شنگ، عمل تمیز کردن و شست و شو سطحی انجام شد. مطابق با روش وسیعی و همکاران (۱۳۹۴) (۸)، گیاه تمیز شده شنگ در دمای اتاق (۲۵ درجه سانتی گراد) خشک گردید و سپس جهت استخراج بهتر عصاره شنگ و برهمکنش آن با حلال مورد نظر (آب مقطر)، عمل پودر کردن گیاه شنگ توسط آسیاب آزمایشگاهی مدل Warning انجام گردید و گیاه پودر شده از الک آزمایشگاهی عبور داده شد. گیاه شنگ توسط روش خیساندن (ماسراسیون) در حلال (آب مقطر) مطابق با دستورالعمل مصرف سنتی گیاه عصاره‌گیری شد. جهت عصاره‌گیری به روش ماسراسیون (خیساندن) ۲۰ گرم گیاه پودر شده شنگ با ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر مخلوط شده و به مدت ۷۲ ساعت در شیکر در دمای

مانند پلاسمید ها، ترانسپوزون ها یا انتگرئون ها توسعه می‌یابد (۲). عوامل موثر بر این توسعه شامل: استفاده نامناسب از آنتی بیوتیک ها، برای مثال استفاده بیش از حد از آنتی بیوتیک‌های قدرتمند با طیف وسیع، حضور آنتی بیوتیک‌ها در صنایع غذایی و دامی و به کارگیری مواد ضد میکروبی در محصولات خانگی است (۲). در نتیجه، بسیاری از میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا در حال حاضر دارای مقاومت چند دارویی هستند. به این معنی که در برابر سه یا چند دسته از داروهای ضد میکروبی مقاوم شده‌اند و در نتیجه درمان آن‌ها مشکل ساز است. این موضوع یک تهدید واقعی برای سلامت بشر می‌باشد و به همین دلیل تلاش انسان‌ها برای یافتن عوامل ضد میکروبی جدید ادامه دارد (۲).

استفاده از گیاهان دارویی قدمتی همپای بشر داشته و برای مدت طولانی یکی از مهمترین ابزارهای انسان برای غلبه بر بیماری‌های عفونی بوده است. پس از ظهور پزشکی نوین و استفاده گسترده از داروهای شیمیایی گرایش مردم برخی کشورها به گیاهان دارویی کاهش یافت. عوارض جانبی فراوان داروهای شیمیایی و ناتوانی پزشکی کلاسیک در درمان بیماری‌ها موجب شد که بشر دوباره به استفاده از گیاهان دارویی جهت درمان بیماری‌ها متمایل گردد (۳). اخیراً به دلیل مقاومت و عوارض جانبی که میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا در رویارویی با آنتی بیوتیک‌ها نشان می‌دهند، توجه زیادی به درمان پزشکی با اسانس‌ها، عصاره‌های گیاهی و ترکیبات با خواص بیولوژیکی شده است. ترکیبات ضد میکروبی گیاهان منابع مهم درمانی هستند. به دلیل گسترش بیماری‌های عفونی، اکتشاف بیشتر این چنین ترکیباتی مفید خواهد بود (۴).

گیاه شنگ با نام علمی *Tragopogon graminifolius* از خانواده آستراسه (کاسنی، *Asteraceae*) است. این گیاه دارای پراکندگی وسیعی بوده، به نحوی که بیش از ۱۰۰ گونه مختلف از گیاه شنگ شناسایی شده و ۲۵ گونه آن در فلورا ایرانیکا وجود دارند. گیاه شنگ از دو کلمه *Tragos* و *Pogon* با ریشه یونانی تشکیل شده است. کلمه *Tragos* به معنی بز و کلمه *Pogon* به معنی ریش می‌باشد. علت این نامگذاری احتمالاً به دلیل پر مو بودن گیاهان این جنس در دوره دانه‌دار بودن، می‌باشد. این گیاه در جهان با نام‌های مختلفی شناخته می‌شود به طوری که در انگلیسی با نام‌های *Goat's beard* و *Salsify*، در عربی با نام *لحيه التيس* و در فرانسوی با نام *Salsifis* شناخته می‌شود (۵).

محیط کشت مولر هینتون آگار که قبل از ۱۰ میکرولیتر سوسپانسیون میکروبی (معادل با استاندارد نیم مک فارلند) به روش کشت سطحی روی آن پخش شده بود، ریخته شد و پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای بهینه (۳۷ درجه سانتی‌گراد) گرمخانه‌گذاری شد. برای تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی رشد عصاره شنگ از روش میکرودايلوشن براث و معرف تری فنیل تترازویلیوم کلراید مطابق با روش انجام شده توسط علیزاده بهبهانی و همکاران (۲۰۱۸) (۱۳)، انجام شد. در این روش به طور خلاصه رقت های متوالی از محلول مادر که دارای غلظت ۵۱۲ mg/ml بود تهیه شد. غلظت های تهیه شده شامل ۲۵۶، ۱۲۸، ۶۴، ۳۲، ۱۶، ۸، ۴ و ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. مطابق با تعریف حداقل غلظت بازدارندگی اولین غلظتی که در آن رشد میکروارگانیسم روی نداده و رنگ قرمز تشکیل نشد (رشد میکروبی با افزودن معرف تری فنیل تترازویلیوم کلراید با غلظت ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر درون هر یک از خانه‌ها بررسی می‌شود) به عنوان حداقل غلظت مهارکنندگی در نظر گرفته شد. تعیین حداقل غلظت کشندگی مطابق با روش علیزاده بهبهانی و ایمانی فولادی (۲۰۱۸) (۱۴)، انجام پذیرفت. با استفاده از روش پور پلیت از خانه‌هایی که در آن تغییر رنگ قرمز مشاهده نشد (از خانه MIC به غلظت های بالاتر) جهت تعیین MBC استفاده شد؛ به این صورت که از این خانه‌ها ۱۰ میکرولیتر بر محیط کشت مولر هینتون آگار، کشت داده شد و پس از ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، اولین غلظتی که در آن کلنی مشاهده نشد به عنوان حداقل غلظت کشندگی تعیین شد. برای تمامی عصاره‌های شنگ قبل از بررسی اثر ضد میکروبی، به طور جداگانه هر یک از عصاره‌ها توسط فیلتر سر سرنگی ۰/۴۵ استریل گردید. جهت اطمینان از استریل بودن عصاره آبی شنگ مقداری از عصاره در پتری دیش حاوی محیط کشت نوترینت آگار کشت شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها به روش تجزیه واریانس یک طرفه و با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۱۸ انجام شد. برای مقایسه میانگین‌ها از روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن و در سطح اطمینان ۹۵ درصد استفاده شد.

#### یافته‌ها

نتایج حاصل از تایید اسم علمی گیاه شنگ نشان داد که گونه‌ی مورد بررسی در این پژوهش متعلق به *Tragopogon graminifolius* بود. بازده عصاره‌دهی آبی گیاه شنگ بر اساس وزن خشک گیاه ۲۳/۸ درصد بود. نتایج بررسی اثر ضد میکروبی

۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. پس از طی ۷۲ ساعت از عمل مخلوط کردن گیاه شنگ و حلال، ابتدا مخلوط گیاه و حلال از پارچه توری تمیز جهت جدا شدن تفاله گیاه عبور داده شد و سپس جهت عصاره‌گیری از کاغذ صافی واتمن استفاده شد. عمل حاضر ۳ بار با دقت انجام شد تا عصاره شنگ کاملاً از تفاله گیاه جدا گردد. عصاره به دست آمده توسط روتاری تغلیظ شده تا حلال به طور کامل حذف گردد. عصاره به دست آمده تا انجام آزمون های ضد میکروبی در شیشه ای که اطراف آن با فویل آلومینیومی پوشیده شده بود در دمای یخچال نگهداری شد. درصد عصاره‌دهی بر اساس وزن خشک گیاه محاسبه گردید (۸).

سویه‌های میکروبی شامل: *استافیلوکوکوس اپیدرمیس PTCC 1435*، *باسیلوس سوبتیلیس PTCC 1023*، *اشرشیا کلی ATCC 25922* و *سالمونلا تیفی PTCC 1609* بود. سویه های میکروبی از بانک میکروبی سویه‌های فریز شده در آزمایشگاه میکروبیولوژی صنعتی، دانشگاه فردوسی مشهد تهیه و قبل از انجام آزمون‌های میکروبی از سویه‌ها کشت ۲۴ ساعته تهیه و فعال شدند (۹). برای استاندارد نمودن میزان تلقیح سویه‌های میکروبی استاندارد نیم مک فارلند (۹۹/۵ میلی لیتر اسید سولفوریک ۱ درصد و ۰/۵ میلی لیتر کلرور باریم ۱/۱۷۵) که معادل  $10^8$  CFU/ml بود، استفاده شد (۱۰).

جهت اعتبار سنجی به نتایج اثر ضد میکروبی عصاره شنگ از انتشار در آگار به کمک دیسک (دیسک دیفیوژن)، چاهک آگار، حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی استفاده شد. به طور خلاصه در روش دیسک دیفیوژن ابتدا غلظت‌های مختلف ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم از عصاره آبی شنگ تهیه شد. بعد از تهیه غلظت‌های عصاره آبی شنگ مطابق با روش نوشاد و همکاران (۲۰۱۸) (۱۱)، با کمی تغییر دیسک های کاغذی تهیه شده به مدت ۱۵ دقیقه در تماس با هر یک از غلظت های عصاره شنگ که توسط فیلتر سر سرنگی استریل شده بود خیسانده شد. دیسک‌های آغشته به غلظت های مختلف عصاره شنگ با فواصل مناسبی که مانع تداخل هاله شود در پلیت ۸ سانتی متر به وسیله پنس استریل؛ قرار داده شد. پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای بهینه رشد باکتری‌های بیماری زا، گرمخانه‌گذاری شدند. از دیسک فاقد عصاره به عنوان کنترل استفاده گردید. پس از گذشت ۲۴ ساعت از گرمخانه‌گذاری هاله های ایجاد شده توسط خط کش اندازه گیری شد و به صورت میلی‌متر گزارش گردید.

روش چاهک آگار مطابق با روش علیزاده بهبهانی و همکاران (۲۰۱۷) (۱۲)، انجام پذیرفت. در این روش ۶۰ میکرولیتر از رقت‌های ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم از عصاره آبی شنگ درون چاهک‌های ایجاد شده با قطر ۶ میلی‌متری روی محیط کشت

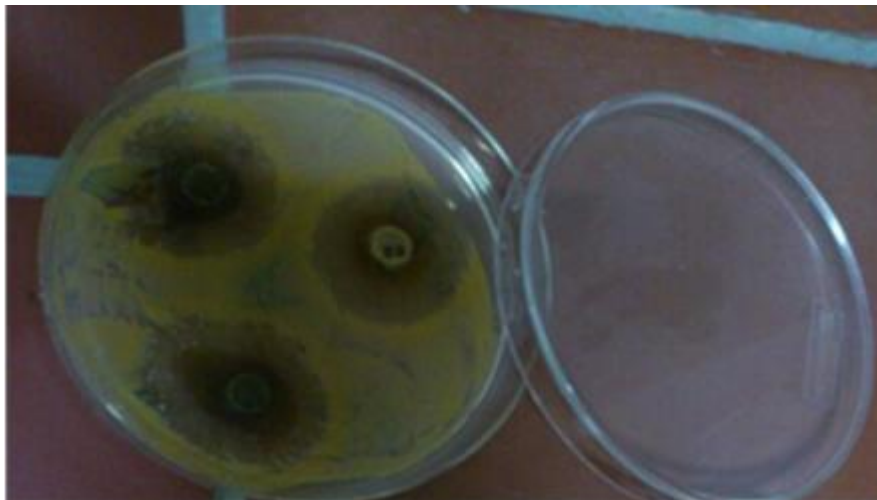
اپیدرمیدیس بود. کم ترین هاله بازدارندگی در روش دیسک / دیفیوژن در غلظت ۴۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر مربوط به باکتری گرم منفی / اشرشیا کلی بود.

عصاره آبی گیاه شنگ به روش دیسک دیفیوژن در جدول ۱، آورده شده است. در شکل ۱، نمونه ای از هاله بازدارندگی عدم رشد عصاره آبی شنگ بر میکروارگانیزم های مورد مطالعه نشان داده شده است. نتایج نشان داد بیشترین قطر هاله عدم رشد در غلظت ۴۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر مربوط به باکتری گرم مثبت / استافیلوکوکوس

جدول ۱- میانگین قطر هاله عدم رشد (میلی متر) غلظت های مختلف عصاره گیاه شنگ بر استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس، باسیلوس سوبتیلیس، اشرشیا کلی و سالمونلا تیفی (دیسک دیفیوژن)

۴۰۰ mg/ml	۳۰۰ mg/ml	۲۰۰ mg/ml	۱۰۰ mg/ml	سویه های میکروبی
۱۶/۳۰±۰/۵۲ <sup>b</sup>	۹/۰۰±۰/۵۰ <sup>a</sup>	۸/۲۰±۰/۵۰ <sup>a</sup>	-	استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس
۱۳/۱۰±۰/۵۴ <sup>b</sup>	۷/۴۰±۰/۴۵ <sup>a</sup>	-	-	باسیلوس سوبتیلیس
۱۰/۸۰±۰/۲۸ <sup>b</sup>	۷/۰۰±۰/۳۲ <sup>a</sup>	-	-	سالمونلا تیفی
۱۰/۵۰±۰/۵۰ <sup>b</sup>	۷/۰۰±۰/۵۵ <sup>a</sup>	-	-	اشرشیا کلی

- حروف غیر مشابه نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح معنی داری ۵ درصد میان غلظت های مختلف عصاره آبی شنگ است.
- حروف مشابه نشان دهنده عدم تفاوت معنی دار در سطح معنی داری ۵ درصد میان غلظت های مختلف عصاره آبی شنگ است.
- (-) نشان دهنده عدم وجود فعالیت ضد میکروبی عصاره آبی شنگ می باشد.



شکل ۱- نمایی از هاله عدم رشد عصاره شنگ به روش دیسک دیفیوژن بر باکتری های مورد مطالعه

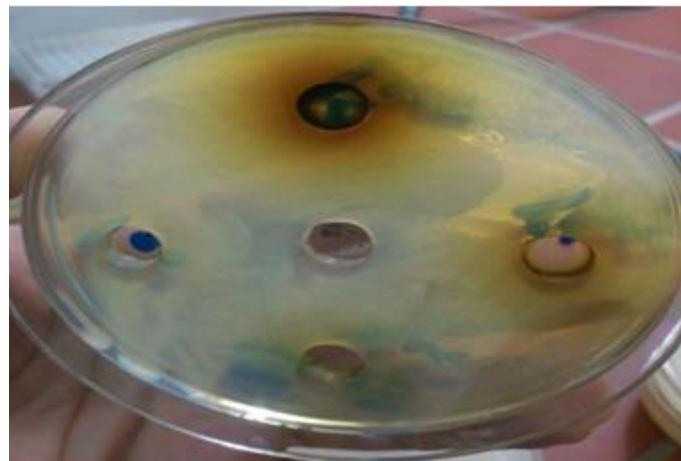
برای باکتری گرم منفی سالمونلا تیفی مشاهده شد. در شکل ۲، نمونه ای از هاله بازدارندگی عدم رشد عصاره آبی گیاه شنگ به روش چاهک آگار نشان داده شده است.

نتایج حاصل از آزمون چاهک آگار برای سویه های استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس، باسیلوس سوبتیلیس، اشرشیا کلی و سالمونلا تیفی در جدول ۲، آورده شده است. نتایج این آزمون نشان داد که بیشترین حساسیت به عصاره آبی گیاه شنگ مربوط به باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس بود. کم ترین حساسیت در برابر عصاره آبی گیاه شنگ نیز

جدول ۲- میانگین قطر هاله عدم رشد (میلی متر) غلظت های مختلف عصاره گیاه شنگ بر استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس، باسیلوس سوبتیلیس، اشرشیا کلی و سالمونلا تیفی (چاهک آگار)

۴۰۰ mg/ml	۳۰۰ mg/ml	۲۰۰ mg/ml	۱۰۰ mg/ml	سویه های میکروبی
۲۲/۰۰±۰/۵ <sup>c</sup>	۱۱/۲۰±۰/۵۵ <sup>b</sup>	۸/۵۰±۰/۵۰ <sup>a</sup>	-	استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس
۱۲/۰۰±۰/۲۸ <sup>b</sup>	۸/۱۰±۰/۵۰ <sup>a</sup>	۷/۰۰±۰/۲۸ <sup>a</sup>	-	باسیلوس سوبتیلیس
۱۱/۹۰±۰/۵۴ <sup>b</sup>	۹/۱۰±۰/۵۲ <sup>a</sup>	-	-	سالمونلا تیفی
۱۲/۰۰±۰/۵۰ <sup>b</sup>	۱۰/۰۰±۰/۵۰ <sup>a</sup>	-	-	اشرشیا کلی

- حروف غیر مشابه نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح معنی داری ۵ درصد میان غلظت های مختلف عصاره آبی شنگ است.
- حروف مشابه نشان دهنده عدم تفاوت معنی دار در سطح معنی داری ۵ درصد میان غلظت های مختلف عصاره آبی شنگ است.
- (-) نشان دهنده عدم وجود فعالیت ضد میکروبی عصاره آبی شنگ می باشد.



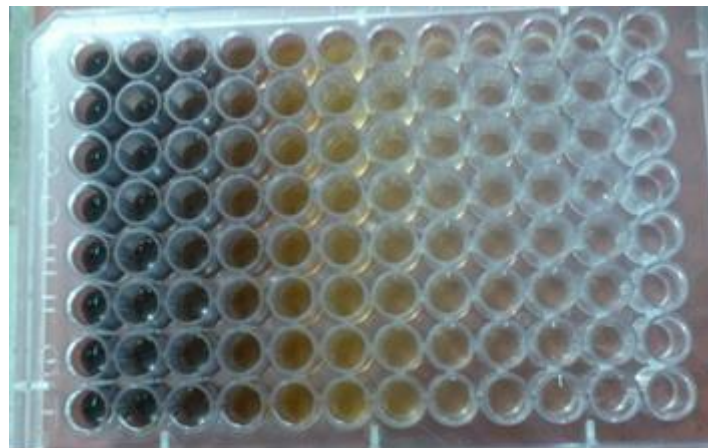
مهارکنندگی عصاره شنگ در شکل ۳، نشان داده شده است. نتایج حداقل غلظت کشندگی عصاره آبی گیاه شنگ در جدول ۴، آورده شده است.

نتایج حاصل از آزمون حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) عصاره آبی شنگ در جدول ۳، آورده شده است. نمایی از روش میکروداپلوشن براث و معرف تری فنیل تترازویلیوم کلراید برای تعیین حداقل غلظت

جدول ۳- نتایج حداقل غلظت بازدارندگی رشد عصاره گیاه شنگ بر استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس، باسیلوس سوبتیلیس، اشرشیا کلی و سالمونلا تیفی

عصاره	سویه های میکروبی	غلظت (میلی گرم / میلی لیتر)										
		کنترل	۱	۲	۴	۸	۱۶	۳۲	۶۴	۱۲۸	۲۵۶	۵۱۲
آبی	استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
آبی	باسیلوس سوبتیلیس	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
آبی	سالمونلا تیفی	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
آبی	اشرشیا کلی	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-

(-) عدم رشد و (+) رشد میکروارگانیسم



شکل ۳- نمایی از حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره شنگ بر باکتری های مورد مطالعه.

جدول ۴- نتایج حداقل غلظت کشندگی عصاره گیاه شنگ بر استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس، باسیلوس سوبتیلیس، اشرشیا کلی و سالمونلا تیفی

حد اقل غلظت کشندگی	سویه های میکروبی
۱۲۸	استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس
۲۵۶	باسیلوس سوبتیلیس
۲۵۶	سالمونلا تیفی
۲۵۶	اشرشیا کلی

## بحث

غلظت مهارکنندگی همیشه برابر و یا کم تر از حداقل غلظت کشندگی می باشد و در مطالعه حاضر نیز حداقل غلظت کشندگی باکتری *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* بزرگتر از حداقل غلظت مهارکنندگی بود و در مورد سایر باکتری ها حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی برابر بود (جدول ۳ و ۴).

به طور کلی مقایسه دو به دو میان غلظت های عصاره آبی گیاه شنگ بر میکروارگانیزم های مورد بررسی در این پژوهش نشان داد که میانگین قطر هاله بازدارندگی عدم رشد غلظت های مختلف (۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر) عصاره شنگ دارای اختلاف معنی داری داشت و با افزایش غلظت عصاره آبی گیاه شنگ قطر هاله عدم رشد افزایش یافت، اما همانگونه که در جدول ۱، نمایان است بین غلظت های ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر از عصاره آبی گیاه شنگ بر باکتری گرم مثبت *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* اختلاف معنی داری در سطح ۵ درصد مشاهده نشد (روش دیسک دیفیوژن). نتایج آنالیزهای آماری نشان داد در روش چاهک آگار بین غلظت های ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر عصاره آبی گیاه شنگ بر باکتری گرم مثبت *باسیلوس سوبتیلیس* اختلاف معنی داری وجود ندارد و در مورد سایر غلظت ها و باکتری های دیگر اختلاف معنی دار مشاهده شد. مقایسه نتایج آزمون های ضد میکروبی به روش دیسک دیفیوژن و چاهک آگار نشان داد که از آنجایی که در روش چاهک آگار عصاره گیاه شنگ به طور مستقیم در تماس با میکروارگانیزم های بیماری زا هست، لذا قطر هاله بازدارندگی در روش چاهک در آگار بیشتر است (جدول ۱ و ۲). نتایج به دست آمده با نتایج سایر پژوهشگران همخوانی داشت (۱۳) و (۱۴).

قاسمی و همکاران (۱۳۹۶)، اثر ضد باکتریایی عصاره هیدروالکلی گیاه شنگ را بر *اسینتوباکتر بومانی* که یک عفونت زای مقاوم بیمارستانی است مورد بررسی قرار دارند. این پژوهشگران گزارش دادند که در بیشترین غلظت به کار رفته که ۱۰ میلی گرم بر میلی لیتر بود، قطر هاله عدم رشد برای عصاره آبی فقط ۲ میلی متر بود و برای عصاره الکلی مشاهده نشد؛ که نشان دهنده مهار رشد بسیار ضعیف عصاره این گیاه بر *اسینتوباکتر بومانی* می باشد (۱۹).

طالعی و همکاران (۲۰۰۸)، نشان دادند که عصاره شنگ در غلظت های پایین تر از ۱۹۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر، علیه هیچ کدام از باکتری های *انتروکوکوس فکالیس*، *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس*، *سودوموناس آئروژینوزا*، *اشرشیا کلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* خاصیت بازدارندگی ندارد (۲۰).

جهانی و همکاران (۲۰۱۶)، گزارش دادند که حداقل غلظت مهار-کنندگی عصاره شنگ بر *سودوموناس آئروژینوزا* و *اشریشیا کلی*، برابر با ۲۵ ppm بود (۴).

استفاده بی رویه از آنتی بیوتیک های مختلف رایج درمانی جهت معالجه بیماری های منجر به ظهور میکروارگانیزم های مقاوم به یک یا چند آنتی بیوتیک شده است. به همین دلیل، علاقمندی به گیاهان دارویی و بومی به عنوان جایگزین برای داروهای سنتزی رو به افزایش است (۱۵). گیاه شنگ، یک گیاه چند ساله است که به طور وسیعی در غرب ایران به عنوان سبزی تازه در مواد غذایی، سالادها و همچنین اهداف درمانی مصرف می شود (۷). در این پژوهش تاثیر عصاره آبی گیاه شنگ بر *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس*، *باسیلوس سوبتیلیس*، *اشرشیا کلی* و *سالمونلا تیفی* مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که رشد باکتری های گرم مثبت *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* و *باسیلوس سوبتیلیس* نسبت باکتری های گرم منفی *اشرشیا کلی* و *سالمونلا تیفی* در غلظت های پایین تری از عصاره آبی شنگ مهار می گردد. در بین سویه های به کار رفته در این پژوهش، *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* بیش از سایر سویه های میکروبی، تحت تاثیر عصاره آبی شنگ قرار گرفت. به طور کلی باکتری های گرم منفی نسبت به باکتری های گرم مثبت مقاومت بیشتری در برابر عصاره آبی گیاه شنگ از خود نشان دادند. براساس پژوهش های مشابهی که توسط سورشجانی و همکاران (۱۳۹۳) (۱۶)، *علیزاده بهبهانی* و همکاران (۱۳۹۳) (۱۰)، *طباطبایی یزدی* و همکاران (۱۳۹۳) (۱۷)، *محبی* و همکاران (۱۳۹۴) (۱۸)، *وسیعی* و همکاران (۱۳۹۴) (۸)، *علیزاده بهبهانی* و ایمانی فولادی (۲۰۱۸) (۱۴)، و *علیزاده بهبهانی* و همکاران (۲۰۱۸) (۱۳)، انجام شده مشخص گردید که باکتری های گرم مثبت نسبت به عصاره و اسانس ها حساس تر از باکتری گرم های منفی هستند. این پژوهشگران علت حساس تر بودن سویه های گرم مثبت نسبت به باکتری های گرم منفی را به دلیل وجود غشاء های خارجی احاطه کننده دیواره سلولی در باکتری های گرم منفی عنوان نموده اند. اگرچه بروز فعالیت ضد باکتریایی اسانس ها و عصاره های گیاهی اغلب بسیار واضح است، اما مکانیسم عمل آن به طور کامل درک نشده است. در مطالعاتی که در بالا به آن اشاره گردید بیان شده است که اسانس ها و عصاره های گیاهان دارویی نفوذپذیری غشاء را افزایش داده و با نفوذ در غشاء منجر به متورم شدن غشاء گردیده و فعالیت آن را کاهش داده و در نهایت منجر به مرگ سلول می شود.

نتایج حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره آبی گیاه شنگ بر *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس*، *باسیلوس سوبتیلیس*، *سالمونلا تیفی* و *اشرشیا کلی* به ترتیب برابر با ۶۴، ۲۵۶، ۲۵۶ و ۲۵۶ بود. نتایج حداقل غلظت کشندگی عصاره آبی گیاه شنگ بر *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس*، *باسیلوس سوبتیلیس*، *سالمونلا تیفی* و *اشرشیا کلی* به ترتیب برابر با ۱۲۸، ۲۵۶، ۲۵۶ و ۲۵۶ بود. به طور کلی براساس نتایج حاصل از حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی عصاره آبی گیاه شنگ می توان بیان کرد که حداقل

، ۵۰ و ۱۰۰ از عصاره برگ گیاه شنگ هیچگونه بیوفیلمی تشکیل نشد و در سایر مقادیر بیوفیلیم تشکیل شده بسیار ناچیز بود (۲۱).

#### نتیجه گیری

نتایج این مطالعه آزمایشگاهی نشان داد که گیاه شنگ دارای فعالیت ضد باکتریایی مناسبی بر سویه های گرم مثبت (*استافیلوکوکوس/پیدرمیدیس* و *باسیلوس سوبتیلیس*) و سویه های گرم منفی (*اشرشیا کلی* و *سالمونلا تیفی*) در شرایط آزمایشگاهی "*in vitro*" دارد. پیشنهاد می گردد برای استفاده از گیاه شنگ، مطالعات بیشتری در شرایط *in vitro* و *in vivo* انجام گیرد تا بتوان از این گیاه برای درمان بیماری های عفونی و کنترل رشد میکروارگانسیم های بیماری زا استفاده نمود.

#### تشکر و قدردانی

مقاله حاضر مستخرج از طرح پژوهشی مصوب با کد ۲/۴۴۷۳۸ در دانشگاه فردوسی مشهد می باشد. نویسندگان مقاله بر خود لازم می دانند که از معاونت پژوهشی دانشگاه فردوسی مشهد به دلیل مساعدت های مالی جهت اجرای این طرح پژوهشی صمیمانه تشکر و قدردانی نمایند.

یوگور و همکاران (۲۰۰۹)، به شناسایی ترکیبات شیمیایی و ارزیابی فعالیت ضد میکروبی عصاره گیاه شنگ گونه *oligolepis* که از منطقه کوه ساندراس کشور ترکیه تهیه شده بود، پرداختند. این گیاه به طور طبیعی روی ماسه های مرطوب یا دشت های سنگی رشد می کنند. نتایج این پژوهشگران نشان داد که عصاره الکلی این گونه از جنس گیاه شنگ دارای پتانسیل بالقوه ای برای مهار رشد باکتری های مقاوم به چند آنتی بیوتیک مانند *سالمونلا* و *استافیلوکوکوس اورئوس* بود (۱۵).

جهانی و همکاران (۲۰۱۶)، به کشف عملکرد برخی از گیاهان دارویی روی باکتری های عفونت زا *سودوموناس آئروژینوزا* و *اشرشیا کلی* در انسان پرداختند. در میان این گیاهان، گونه ای از جنس گیاه شنگ نیز قرار داشت که در ارتفاعات ۱۴۰۰ متری رشته کوه زاگرس رشد می کنند. در استان های چهارمحال و بختیاری و لرستان از این گونه علاوه بر خواص درمانی، به عنوان ضد التهاب برای آسیب ها و صدمات در گوسفندان و بزها نیز استفاده می کنند (۴).

مشهدی و همکاران (۲۰۱۶)، در پژوهشی اثر برخی از عصاره های گیاهی روی تشکیل بیوفیلیم حاصل از باکتری *سودوموناس آئروژینوزا* در شرایط برون تنی را مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که عصاره های گیاهی مختلف از جمله عصاره برگ گیاه شنگ سرعت تشکیل بیوفیلیم را کاهش داد، به طوری که در غلظت های ۲۵ ppm

## REFERENCES

1. Khan UA, Rahman H, Niaz Z, Qasim M, Khan J, Tayyaba, et al. Antibacterial activity of some medicinal plants against selected human pathogenic bacteria. *European Journal of Microbiology and Immunology*. 2013;3(4):272-4.
2. Baltzer SA, Brown MH. Antimicrobial peptides—promising alternatives to conventional antibiotics. *Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology*. 2011;20(4): 228-35.
3. Igbinsola O, Igbinsola 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): 58-62.
4. Jahani S, Saeidi S, Javadian F, Akbarizadeh Z, Sobhanizade A. Investigating the antibacterial effects of plant extracts on *Pseudomonas aeruginosa* and *Escherichia coli*. *International Journal of Infection*. 2016;3(2): 1-4.



5. Bayrami Z, Khalighi-Sigaroodi F, Abdollahi M, Rahimi R, Farzaei M, Hajiaghaee R. A Review of the Medicinal Plants from the *Tragopogon* Spp. *Journal of Medicinal Plants*. 2016; 4 (60) :1-13. [Full Text in Persian].
6. Farzaei MH, Abbasabadi Z, Shams-Ardekani MR, Abdollahi M, Rahimi R. A comprehensive review of plants and their active constituents with wound healing activity in traditional Iranian medicine. *Wounds*. 2014;26(7):197-206.
7. Farzaei MH, Rahimi R, Attar F, Siavoshi F, Saniee P, Hajimahmoodi M, et al. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activity of essential oil and extracts of *Tragopogon graminifolius*, a medicinal herb from Iran. *Natural Product Communications*. 2014;9(1):121-4.
8. Vasiee A, Tabatabaei Yazdi F, Mortazavi S. Evaluation of the antibacterial activity of coriander (*Coriandrum sativum*) on a number of pathogenic microorganisms "in vitro". *Iranian Journal of Infectious Diseases and Tropical Medicine*. 2014; 20(71): 59-66. [Full Text in Persian].
9. Kolahi Marand S. Comparison of antimicrobial compounds extracted from the leaves of artichoke (*Cynara scolymus*) by supercritical fluid and maceration and its effect on the population of microorganisms of food poisoning and infections. MSc Thesis. 2015. Ferdowsi University of Mashhad. [Full Text in Persian].
10. 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): 13-9. [Full Text in Persian].
11. Noshad M, Hojjati M, Alizadeh Behbahani BA. Black Zira essential oil: Chemical compositions and antimicrobial activity against the growth of some pathogenic strain causing infection. *Microbial Pathogenesis*. 2018; 116:153-7.
12. Alizadeh Behbahani B, Shahidi F, Yazdi FT, Mortazavi SA, Mohebbi M. Use of *Plantago major* seed mucilage as a novel edible coating incorporated with *Anethum graveolens* essential oil on shelf life extension of beef in refrigerated storage. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2017;94: 515-26.
13. Alizadeh Behbahani B, Yazdi FT, Vasiee A, Mortazavi SA. *Oliveria decumbens* essential oil: Chemical compositions and antimicrobial activity against the growth of some clinical and standard strains causing infection. *Microbial Pathogenesis*. 2018;114:449-52.
14. Alizadeh Behbahani B, Fooladi AAI. Evaluation of phytochemical analysis and antimicrobial activities *Allium* essential oil against the growth of some microbial pathogens. *Microbial Pathogenesis*. 2018;114:299-303.
15. Ugura A, Sarac N, Ceylan O, Emin Duru M, Okmen G and Varol O. Chemical composition of endemic *Tragopogon oligolepis* and studies on the antimicrobial activity against multi-antibiotic resistant bacteria. *Acta Horti*. 2010; 853: 299-306.
16. Heidari Sureshjani M, Tabatabaei Yazdi F, Mortazavi A, Shahidi F, Inhibitory and Lethal Effects of Aqueous and Ethanolic Extracts of *Kelussia odoratissima* on *Bacillus cereus*, *Listeria innocua* and *Escherichia coli* "in vitro". *Iranian Journal of Infectious Diseases and Tropical Medicine* 2014; 18(64): 19-24. [Full Text in Persian].

17. 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. [Full Text in Persian].
18. Mohebbat Mohebhi 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): 21-9. [Full Text in Persian].
19. Ghasemi, M.H ,R; Sedighi, M; Vakili amini, M; Bagher abadi, Sh, Antimicrobial effect of Sheng hydroalcoholic extract on *Acinetobacter baumannii* under in vitro. Iranian Journal of Infectious Diseases and Tropical Medicine, 2016. 22(78): 41-5. [Full Text in Persian].
20. Talei GR, Meshkatalasadat MH, Mosavi Z. Antibacterial Activity of *Fumaria parviflora* Lam, *Allium haementhaides*, *Tragopon carcifolus*, *Buxus hyrecana* pojark and two variant of *Thymus* native Lorestan. J of GUMS 2008;10(1):31-5.
21. Mashhady MA, Abkhoo J, Jahani S, Abyar S, Khosravani F. Inhibitory effects of plant extracts on *pseudomonas aeruginosa* biofilm formation. International Journal of Infection. 2016;3(4): 71-81.