Archive of SID

بررسی ویژگی های ضد باکتریایی عصاره های آبی، اتانولی و متانولی گیاه درمنه ترکی مناطق اطراف شهر بابل

منوچهر اشرف پور[۱]، حکیمه رضایی[۲]، سیدعلی اصغر سفیدگر[۳*]، محمود برادران[۴]، حمزه شریفی[۵]

۱) گروه فیزیولوژی و مرکز تحقیقات علوم اعصاب، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران

۲) آموزش و پرورش شهرستان بابل، بابل، ایران

۳) گروه قارچ شناسی و انگل شناسی، دانشکده پزشکی و مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران

۴) گروه فارماکولوژی و مرکز تحقیقات علوم اعصاب، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران

۵) گروه زبان انگلیسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران

تاریخ دریافت: ۹۳/۱۲/۱۸ **تاریخ پذیرش: ۹٤/٤/۹**

چکیده

مقدمه: مقاومت میکروبی در برابر آنتی بیوتیک ها و اثرات سوء افزودنی ها و مواد نگهدارنده غذایی از مشکلات رایج سیستم بهداشتی درمانی است که کنترل و رفع آن ها دستیابی به گروه جدیدی از ترکیبات ضد میکروبی را ضروری می سازد. در این راستا ترکیبات مشتق از عصاره های گیاهی به عنوان منابع بالقوه مهم حائز اهمیت زیادی هستند. بنا بر این با توجه به مقاومت آنتی بیوتیکی در برابر میکروارگانیسم ها و ضرورت شناسایی و معرفی ترکیبات جدید مطالعه حاضر با هدف تعیین اثرات ضد میکروبی عصاره گیاه درمنه انجام گرفت.

مواد و روش ها: مطالعه در دو مرحله عصاره گیری و تعیین خواص ضد باکتریایی عصاره های آبی، اتانولی و متانولی Artemisia Annua (A.A) در برابر ۴ سویه از باکتری های استافیلوکوک طلایی، استرپتوکوکوس موتانس، اشرشیا کلی و آنتروکوکوس فکالیس انجام شده است. از روش انتشار دیسک و نیز روش چاهک برای اندازه گیری قطر هاله عدم رشد حاصل از هر عصاره و غلظت های مختلف آن ها به عنوان شاخص فعالیت ضد میکروبی استفاده شده است. فعالیت ضد میکروبی عصاره ها در برابر نمونه بلانک و نیز آنتی بیوتیک هایی که به طور رایج در درمان عفونت های میکروبی مورد استفاده قرار می گیرند، مقایسه گردیدند.

یافته های پژوهش: هر سه عصاره آبی، اتانولی و متانولی A.A توانستند در مقایسه با نمونه بلانک و آنتی بیوتیک خاصیت ضد باکتریایی معنی داری به وجود آورند. عصاره آبی در غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر معادل ۳۰ درصد اثر ضد باکتریایی سیپروفلوکساسین بر اشرشیاکلی و عصاره متانولی با بیشترین فعالیت ضد میکروبی معادل ۷۱ درصد ونکومایسین تاثیر مهاری بر رشد آنتروکوکوس فکالیس نشان داده اند. عصاره آبی کمترین تاثیر مهاری را بر باکتری های اشرشیا کلی و آنتروکوکوس فکالیس ایجاد نمود، ولی اثرات مهاری حاصل از این عصاره در مقایسه با نمونه بلانک معنی دار بوده است($P<0.01$).

بحث و نتیجه گیری: عصاره های آبی، اتانولی و متانولی A.A درجات متفاوتی از ویژگی آنتی باکتریال را نشان می دهند که این تاثیر به غلظت مورد استفاده آن ها وابسته است. بنا بر این احتمالاً این اثرات مهاری در برابر هر باکتری به فعالیت مواد موثره گیاه A.A قابل انتساب است که کیفیت استخراج آن ها به ویژگی های حلال به کار رفته بستگی دارد. ممکن است از طریق شناسایی و استخراج این مواد بتوان به ترکیبات ضد میکروبی جدیدی دست یافت.

واژه های کلیدی: Artemisia annua، عصاره، ضد باکتریایی، ضد میکروبی، بابل

* نویسنده مسئول: گروه قارچ شناسی و انگل شناسی، دانشکده پزشکی و مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی بابل، بابل، ایران

E-mail:sepid_med_lab@yahoo.com

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

مقاومت میکروارگانیسم ها در برابر آنتی بیوتیک مشکلاتی را در پی دارد که این موضوع به یکی از نگرانی های مهم جامعه بشری و نظام سلامت و درمان تبدیل شده است(۱). با پیدایش باکتری های مقاوم به درمان با آنتی بیوتیک، اثربخشی داروهای موجود کاهش یافته و این امر شکست درمان های ضد میکروبی را به طور فزاینده ای افزایش داده است(۲). علاوه بر این، استفاده گسترده از داروهای با منشاء صنعتی و نیز استفاده نادرست از این داروها موجب بروز عوارض جانبی زیادی می شود که گاهی اثرات سمی حاصل جدی تر از خود بیماری ها خواهند بود(۳). یک روش برای جلوگیری از ایجاد پدیده مقاومت باکتری های بیماری زا در برابر آنتی بیوتیک ها، استفاده از ترکیبات جدیدی است که به لحاظ ساختمان پایه ای با داروهای ضد میکروبی با منبع صنعتی موجود تفاوت دارند(۴،۵).

به واسطه افزایش بروز مشکل مقاومت آنتی بیوتیکی، نیاز اکید به دستیابی به داروهای ضد باکتریایی جدید وجود دارد و از میان منابع بالقوه داروهای جدید، گیاهان از اهمیت و جایگاه ویژه ای برخوردار هستند(۶). در سال های اخیر تمایل رو به رشدی برای کشف و معرفی مواد ضد میکروبی با منشاء گیاهی به وجود آمده است، چرا که گیاهان ترکیبات با ساختمان های مولکولی پیچیده ای می سازند که برخی از آن ها با خواص ضد میکروبی گیاهی مرتبط هستند، آلکالوئیدها، فلاونوئیدها، ایزوفلاونوئیدها، تانن ها، گلیکوزیدها، ترپن ها و ترکیبات فنلی از جمله این متابولیت های ثانویه هستند که قادرند خواص ضد میکروبی به وجود آورند(۷). از نقطه نظر شیمیایی، عصاره های گیاهی اغلب دارای پلی پرانوییدها، ترکیبات آروماتیک و سس کوئی ترپن ها هستند که این ترکیبات به دلیل دارا بودن گروه های فنلی در ساختمان شان می توانند بر روی طیفی از باکتری ها اثرات ضد میکروبی به وجود آورند(۸). دانش ترکیبات شیمیایی موجود در گیاهان نه تنها به جهت کشف داروهای درمانی بلکه هم چنین به دلیل این که می توانند اطلاعاتی ارائه دهند که در یافتن منابع جدید راه گشا باشند، نیز دارای اهمیت زیادی است و استفاده از فرآورده های شیمیایی با منشاء گیاهی که دارای خواص ضد میکروبی شناخته شده باشند می تواند به کنترل سویه های مقاوم به درمان کمک قابل ملاحظه ای نماید(۱). در همین راستا، سازمان بهداشت جهانی استفاده از داروهای با منشاء طبیعی را به عنوان روش مطمئنی برای درمان بیماری های با منشاء میکروبی و غیر میکروبی توصیه نموده است(۹).

گیاهان متعددی شناسایی شده اند که دارای اثرات درمانی از جمله خواص ضد میکروبی هستند(۹،۱۰). اگر چه تاکنون صدها گونه گیاهی از نظر ویژگی های ضد میکروبی مطالعه شدند، ولی هنوز اغلب قاطع آن ها به اندازه کافی مورد بررسی قرار نگرفتند(۹،۱۱). گیاهان به عنوان منبعی برای داروهای جدید هنوز تا حدود زیادی ناشناخته باقی ماندند و مطالعات غربالگری جهت کشف اثرات و ترکیبات و مولکول های فعال بیولوژیک جدید می تواند حائز اهمیت زیادی باشد(۹). در سال های اخیر، شرکت های دارویی وقت و هزینه های گزافی صرف تولید فرآورده های طبیعی با منشاء گیاهی می کنند تا از این طریق درمان را به صرفه تر نمایند(۱۰).

همان طور که گفته شد گیاهان می توانند منبع بالقوه مفید مهمی برای تهیه داروهای جدید باشند و مرحله نخست دستیابی به هدف مذکور بررسی فعالیت ضد میکروبی آن ها در شرایط in vitro می باشد. بر اساس یافته های مطالعات، درجات مختلفی از اثرات مهاری و ضد میکروبی برای عصاره A.A گزارش گردیده است(۸،۱۲،۱۳). اگر چه تعیین مواد موثره تشکیل دهنده گیاهان به لحاظ فارماکولوژیک حائز اهمیت زیادی است، ولی لازم است در ابتدا اثربخشی عصاره های به دست آمده از آن ها مشخص گردد. در این رابطه ذکر شده است که در مراحل ابتدایی کشف و تولید داروهای جدید، انتخاب عصاره های گیاهی خام جهت مقاصد تحقیقاتی نسبت به غربالگری ترکیبات خالص مجزا شده از آن ها می تواند مناسب تر باشد(۳،۱۰). با توجه به آن چه گفته شد در مطالعه حاضر بر آن شدیم تا نوعی بررسی غربالگری اولیه برای تعیین تاثیر ضد میکروبی عصاره های آبی، اتانولی

www.SID.ir

Archive of SID

و متانولی برگ و گل گیاه A.A در روش انتشار دیسک انجام دهیم که در آن ۴ میکروارگانیسم از باکتری های گرم مثبت استافیلوکوکوس طلایی، استرپتوکوکوس موتانس و آنتروکوکوس فکالیس و نیز باکتری گرم منفی اشرشیاکلی مورد بررسی قرار گرفتند.

مواد و روش ها

جمع آوری، شناسایی، خشک نمودن و تهیه پودر گیاه: نمونه های اندام های هوایی گیاه A.A بعد از شناسایی و تایید توسط دو نفر از اساتید سیستماتیک گیاهی دانشگاه مازندران از زمین های زراعی مناطق اطراف شهرستان بابل جمع آوری شده اند. نمونه ها پس از جمع آوری، چند بار با آب شستشو داده شده سپس با اتوکلاو خشک نموده و برای سهولت عصاره گیری، نمونه ها با آسیاب برقی به صورت پودر درآمده اند.

عصاره گیری: عصاره گیری از پودر برگ و گل گیاه در سه مرحله مجزا و با سه حلال آبی، اتانولی و متانولی تهیه شده است. برای تهیه عصاره آبی ۲۵ گرم از پودر را در یک ارلن ریخته و حجم را با آب مقطر به ۱۰۰ سی سی رساندیم، خمیر حاصله را مجدداً با ۵۰ میلی لیتر آب مقطر حل نموده و دهانه ارلن را با فویل آلومینیومی بسته و به مدت ۲۴ ساعت روی شیکر قرار دادیم، سپس عصاره به دست آمده را ابتدا با پارچه توری استریل و سپس با کاغذ صافی صاف نموده ایم. بعد از صاف شدن، محلول را در پتری دیش ریخته و آن را برای تبخیر آب و خشک شدن کامل داخل انکوباتور ۳۷ درجه قرار دادیم(۸،۹،۱۴). بعد از خشک شدن عصاره دهانه ظرف را بسته و برای استفاده در شرایط دور از نور و در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری می شد. برای تهیه عصاره متانولی و اتانولی نیز به روش فوق عمل گردید، ولی به جای آب از اتانول ۹۶ درصد و متانول ۸۰ درصد استفاده شد. غلظت های ۶/۲۵، ۱۲/۵، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر عصاره های الکلی با استفاده از دی متیل سولفوکساید(DMSO) ولی عصاره آبی با آب مقطر آماده گردید.

ارزیابی فعالیت ضد باکتریایی عصاره: در مطالعه حاضر سه باکتری گرم مثبت انتروکوکوس فکالیس، استافیلوکوکوس اورئوس و استرپتوکوکوس موتانس و باکتری گرم منفی اشرشیاکلی برای بررسی فعالیت ضد باکتریایی عصاره A.A مورد استفاده قرار گرفتند. تمام سویه های باکتری استاندارد که دارای کد مشخص می باشند از مرکز پژوهش های علمی و صنعتی ایران تهیه شدند و دسترسی به سویه ها در شرایط استریل و مطابق راهنمایی مرکز مربوطه صورت گرفت. باکتری ها تا زمان استفاده در شرایط ایزوله و در محیط آگار و در دمای ۴ درجه نگهداری می شدند. از روش تعیین حساسیت باکتری به روش انتشار دیسک برای بررسی فعالیت ضد باکتریایی استفاده شد(۱۳،۱۵). ابتدا حجم های مساوی از هر سوسپانسیون باکتریایی آماده شد تا در طول موج ۵۳۰ نانومتر سطح جذبی معادل ۰/۵ مک فارلند تشکیل دهد(۸،۱۶) که کدورت حاصل از این سوسپانسیون باکتریایی با 1.5×104 CFU/ml متناسب است(۵،۸). در مطالعه حاضر به واسطه تنوع باکتری های مورد بررسی از محیط کشت مولر- هینتون شرکت مرک آلمان استفاده شده است. همه محیط کشت ها مطابق راهنمایی های شرکت تولید کننده مورد استفاده قرار گرفتند. برای بررسی فعالیت آنتی باکتریال برای هر یک از باکتری های مورد مطالعه، عصاره ها در غلظت های ۶/۲۵، ۱۲/۵، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر به کار برده شده اند. ارزیابی فعالیت ضد میکروبی هر غلظت از عصاره های مختلف برای هر سویه میکروبی در سه نوبت و با استفاده از آزمایش های رقیق سازی آگار و مطابق توصیه های کمیته ملی استاندارد آزمایشگاه های بالینی(۱۷،۱۸) صورت گرفت. برای این منظور ۱۵ میلی لیتر از محیط کشت استریل با دمای مناسب به داخل پتری دیش های با اندازه های مساوی منتقل و اجازه داده می شد که یکنواخت گردد. سطح پلیت حاوی محیط مغذی استریل را با سوسپانسیون باکتری پوشانده، سپس با استفاده از یک پیپت پاستور استریل در هر پلیت سه چاهک به قطر ۶ میلی متر ایجاد می شد. در دو چاهک ۶۰ میکرولیتر از دوزهای مورد نظر عصاره، ولی در چاهک سوم حجم برابری از آنتی بیوتیک ونکومایسین با دوز ۳۰ میکروگرم به عنوان کنترل مثبت باکتری های گرم مثبت استافیلوکوک

www.SID.ir

Archive of SID

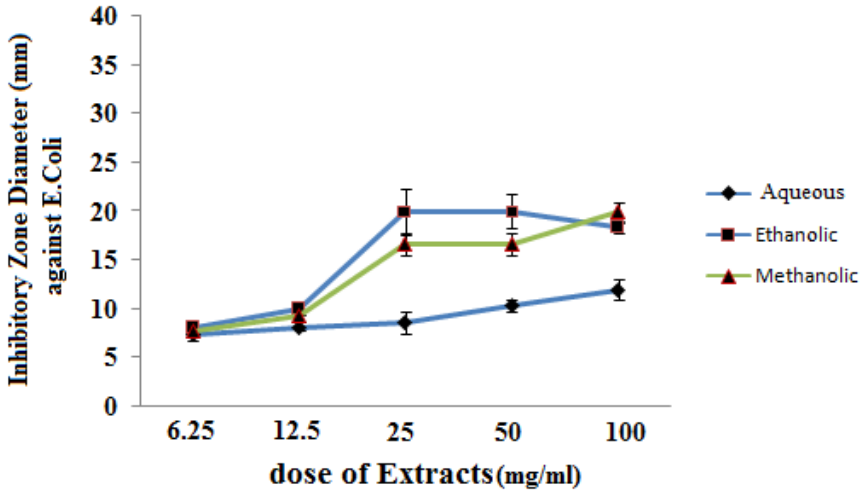
طلایی، استرپتوکوکوس موتانس و آنتروکوکوس فکالیس و یا سیپروفلوکساسین دوز ۵ میکروگرم برای باکتری اشرشیاکلی ریخته می شد، پلیت ها برای پیش انتشار عصاره(۱۹) به مدت ۱ ساعت ثابت نگه داشته، سپس به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه می شدند. در پایان دوره انکوباسیون قطر هاله عدم رشد با واحد میلی متر اندازه گیری می شد و میانگین قطر نواحی مهار در مقایسه با نمونه کنترل مثبت و منفی به عنوان شاخص فعالیت ضد میکروبی عصاره ها در نظر گرفته می شد(۱،۲۰). دیسک های حاوی آنتی بیوتیک ونکومایسین و سیپروفلوکساسین به عنوان کنترل مثبت، ولی دیسک های حاوی محیط کشت همراه با حلال DMSO ۱۰ درصد به عنوان کنترل منفی در نظر گرفته می شدند. در مورد عصاره آبی نیز مثل سایر عصاره ها عمل می شد، ولی برای نمونه شاهد از حجم مساوی محیط کشت و نرمال سالین استریل به عنوان بلانک استفاده گردید. ارزیابی فعالیت ضد میکروبی هر غلظت از عصاره های مختلف و برای هر سویه میکروبی در سه مرتبه تکرار و نتایج با یافته های نمونه های کنترل مثبت و منفی و نیز بین غلظت ها و عصاره های مختلف مورد مقایسه قرار دادیم.

درصد قطر نسبی ناحیه مهار به عنوان یک شاخص فعالیت ضد میکروبی با استفاده از فرمول زیر محاسبه می شد(۵) که در آن RIZD (relative inhibitory zone diameter) درصد قطر نسبی ناحیه مهار و IZD (inhibitory zone diameter) قطر ناحیه مهار بر حسب میلی متر است.

$$\%RIZD = \frac{(IZD\ sample - IZD\ negative\ control)}{IZD\ antibiotic\ standard} \times 100\%$$

آزمون های آماری: نتایج به صورت میانگین±انحراف معیار بیان شدند. آنالیز واریانس(ANOVA) یک طرفه برای مقایسه مقادیر حاصل از گروه ها انجام و مقدار احتمال($P<0.05$) به عنوان مبنای معنی داری مقایسه داده ها قرار گرفت.

یافته های پژوهش

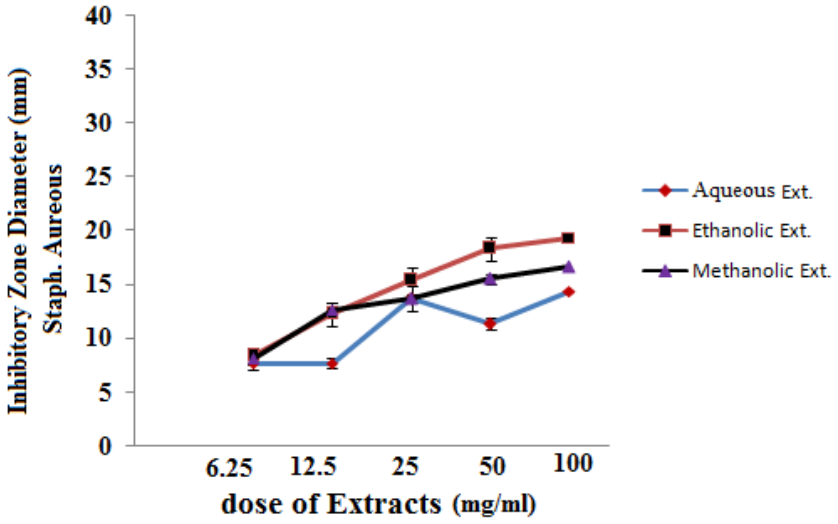


شکل شماره ۱. فعالیت ضد باکتریایی غلظت های مختلف عصاره های آبی، اتانولی و متانولی A. Annua در مقابل باکتری اشرشیاکلی بر اساس قطر هاله عدم رشد(mm) در روش بررسی انتشار دیسک. داده ها بر اساس میانگین و انحراف معیار نتایج تکرار سه آزمایش مجزا بیان شده اند.

www.SID.ir

Archive of SID

شکل شماره ۱ نمودار تاثیر آنتی باکتریال غلظت های مختلف عصاره های آبی، اتانولی و متانولی A.A بر باکتری اشرشیاکلی را نشان می دهد. هر سه عصاره در تمامی غلظت ها فعالیت ضد باکتریایی به وجود آورده اند. همان طور که در شکل دیده می شود دوز ۶/۲۵ میلی گرم هر سه عصاره حداقل ناحیه مهار را به وجود آورد و کمترین اثر ضد باکتریایی را نشان داد، ولی دوز ۲۵ و ۵۰ میلی گرم آن بیش از غلظت ۱۰۰ میلی گرم آن ها اثر مهاری ایجاد نمود. مقایسه میانگین قطر ناحیه مهار(IZD) در شکل فوق نشان می دهد که عصاره آبی A.A در مقایسه با عصاره های اتانولی و متانولی فعالیت باکتریسیدال کمتری به وجود آورد. مقدار IZD برای دوز ۶/۲۵ میلی گرم عصاره آبی ۷/۳۳±۰/۵۷ میلی متر ولی دوز ۱۰۰ میلی گرم آن IZD معادل ۱±۱۲ میلی متر ایجاد نمود که حاکی از نوعی تاثیر مهاری وابسته به غلظت عصاره آبی است. عصاره های اتانولی و متانولی فعالیت مهاری بیشتری ایجاد نموده اند. اگر چه غلظت ۶/۲۵ میلی گرم این عصاره ها با میانگین ناحیه مهار ۷–۸ میلی متر تاثیر ضد باکتریال متوسطی نشان داده اند، ولی غلظت های ۱۰۰ میلی گرم آن ها با ایجاد IZD بین ۱۸–۲۰ میلی متر فعالیت باکتریسیدال بالایی به وجود آوردند که در مقایسه با قطر ناحیه مهار حاصل از دوز ۵ میکروگرم برای هر دیسک آنتی بیوتیک سیپروفلوکساسین با میانگین قطر ناحیه مهار ۴۰ میلی متر از تاثیر مهارکننده این عصاره ها بر رشد اشرشیاکلی دلالت دارد.



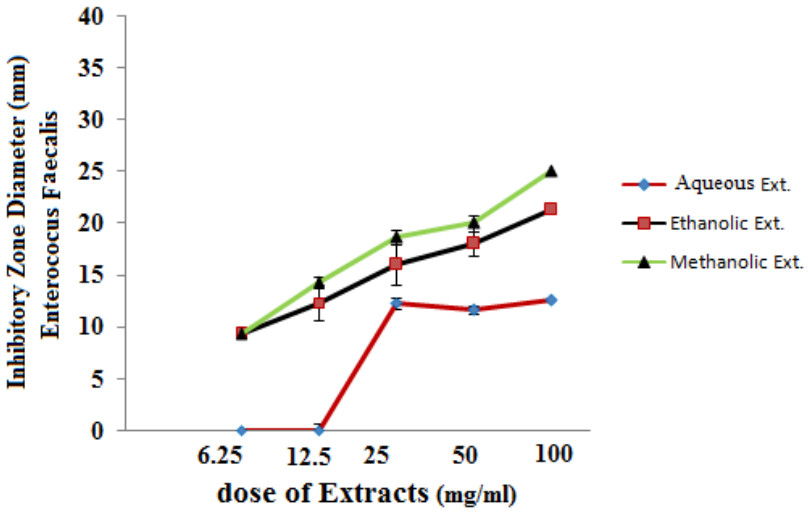
شکل شماره ۲. فعالیت ضد باکتریایی غلظت های مختلف عصاره های آبی، اتانولی و متانولی A. Annua در مقابل باکتری استافیلوکوک طلایی بر اساس قطر هاله عدم رشد(mm) در روش بررسی انتشار دیسک. داده ها بر اساس میانگین و انحراف معیار نتایج تکرار سه آزمایش مجزا بیان شده اند.

در شکل شماره ۲ تاثیر ضد میکروبی ۵ غلظت از عصاره های مختلف A.A بر باکتری گرم مثبت استافیلوکوک طلایی منعکس شده است. قطر ناحیه مهار حاصل از دوز ۳۰ میکروگرم برای هر دیسک آنتی بیوتیک ونکومایسین ۰±۲۸ میلی متر بود. هر سه عصاره آبی، اتانولی و متانولی A.A توانستند تاثیر ضد میکروبی بر استافیلوکوک طلایی به وجود آورند که این تاثیر برای غلظت ۶/۲۵ میلی گرم هر سه عصاره بین ۷/۶–۸/۳ میلی متر ولی برای دوز ۱۰۰ میلی گرم آن ها ناحیه مهار بزرگ تری ایجاد شد که اندازه آن

www.SID.ir

Archive of SID

۱۴/۳۳ میلی متر برای عصاره آبی و ۱۹/۳۳ میلی متر برای عصاره اتانولی بود و ناحیه مهار ناشی از عصاره متانولی بین این دو مقدار و معادل ۱۶/۶۶ میلی متر بود. این یافته ها حاکی از آن هستند که عصاره اتانولی A.A نسبت به عصاره های متانولی و آبی تاثیر ضد استافیلوکوک طلایی بیشتری ایجاد می کند. همان طور که از شکل فوق بر می آید تاثیر ضد میکروبی عصاره اتانولی A.A بر استافیلوکوک طلایی به صورت وابسته به غلظت بروز می کند و با افزایش غلظت عصاره اتانولی ناحیه مهار با قطر بیشتر و در نتیجه عمل ضد میکروبی قویتری بر این میکروارگانیسم پدید می آید.

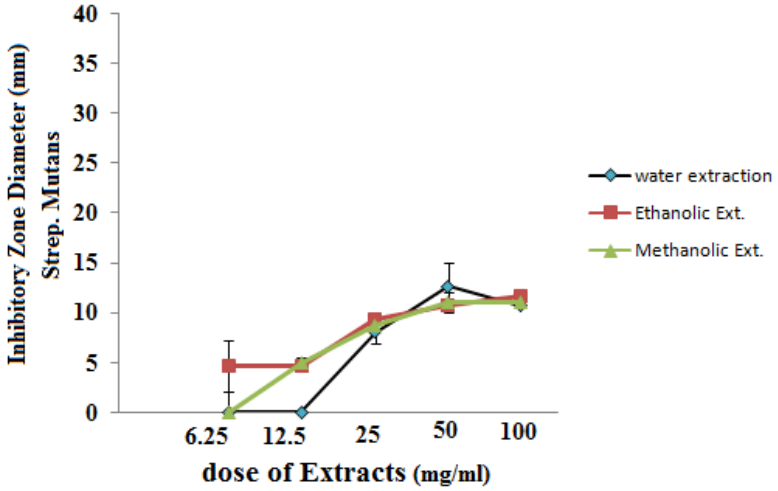


شکل شماره ۳. فعالیت ضد باکتریایی غلظت های مختلف عصاره های آبی، اتانولی و متانولی A. Annua در مقابل باکتری آنتروکوکوس فکالیس بر اساس در قطر هاله عدم رشد(mm) در روش بررسی انتشار دیسک.
داده ها بر اساس میانگین و انحراف معیار نتایج تکرار سه آزمایش مجزا بیان شده اند.

شکل شماره ۳ میانگین و انحراف معیار قطر نواحی مهار مربوط به رشد باکتری آنتروکوکوس فکالیس را در حضور غلظت های مختلف عصاره های A.A نشان می دهد. از آنتی بیوتیک ونکومایسین به عنوان کنترل مثبت استفاده شد که میانگین ناحیه مهار حاصل از آن ۱±۳۵ میلی متر بود. هیچ ناحیه مهاری برای تکثیر باکتری آنتروکوکوس فکالیس در محیط با غلظت ۶/۲۵ و ۱۲/۵ میلی گرم عصاره آبی تشکیل نشد، ولی غلظت های ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم عصاره آبی ناحیه مهار با قطرهای بین ۱۲/۳۳ تا ۱۲/۶ میلی متر تشکیل دادند. هم چنان که در شکل مزبور دیده می شود تاثیر ضد میکروبی شدیدتر بر آنتروکوکوس فکالیس توسط عصاره های اتانولی و متانولی A.A به وجود آمد که این فعالیت آنتی باکتریال به صورت وابسته به غلظت ایجاد گردید. در مقایسه اثر ضد باکتریایی دو عصاره اتانولی و متانولی می توان دید که عصاره متانولی موثرتر از عصاره اتانولی بوده است. قطر ناحیه مهار حاصل از غلظت ۶/۲۵ میلی گرم هر دو عصاره اتانولی و متانولی مشابه و تقریباً ۹/۳ میلی متر بود، در مقابل حداکثر قطر ناحیه مهار برای غلظت ۱۰۰ میلی گرم عصاره متانولی(۰/۷۵±۲۵ میلی متر) ولی قطر ناحیه مهار ناشی از غلظت ۱۰۰ میلی گرم عصاره اتانولی ۱/۱۷±۲۱/۳۳ میلی متر بوده است.

www.SID.ir

Archive of SID



شکل شماره ٤. فعالیت ضد باکتریایی غلظت های مختلف عصاره های آبی، اتانولی و متانولی A. Annua در مقابل باکتری استرتوکوکوس موتانس بر اساس در قطر هاله عدم رشد(mm) در روش بررسی انتشار دیسک.
داده ها بر اساس میانگین و انحراف معیار نتایج تکرار سه آزمایش مجزا بیان شده اند.

نتایج به دست آمده از تعیین اثرات ضد میکروبی عصاره های A.A در مقابل باکتری استرپتوکوکوس موتانس را می توان در شکل شماره ۴ ملاحظه نمود. میانگین قطر ناحیه مهار حاصل از ونکومایسین به عنوان کنترل مثبت ۱±۲۵ میلی متر بوده است. اندازه قطر ناحیه مهار غلظت ۶/۲۵ و ۱۲/۵ میلی گرم عصاره آبی صفر میلی متر، ولی در دوزهای بالاتر عصاره آبی ناحیه مهار بین ۸-۱۲/۶۶ میلی متر برای استرپتوکوکوس موتانس به وجود آمد که در مقایسه با ناحیه مهار صفر میلی متر ناشی از DMSO به عنوان کنترل منفی قابل توجه و معنی دار است($P<0.01$). عصاره اتانولی A.A نیز در غلظت ۶/۲۵ میلی گرم ناحیه مهار با قطر متوسط ۲±۴/۶ میلی متر در مقابل استرپتوکوکوس موتانس تشکیل داد که این ناحیه برای غلظت ۱۰۰ میلی گرم آن به ۰/۵۵±۱۱/۷ میلی متر رسید که به طور معنی داری تاثیر آنتی باکتریال بالاتر این غلظت را نشان می دهد($P<0.05$). عصاره متانولی A.A نیز فعالیت ضد باکتریایی بر علیه استرپتوکوکوس موتانس به صورت وابسته به غلظت نشان داد، قطر متوسط ناحیه مهار حاصل از غلظت ۶/۲۵ میلی گرم معادل صفر، ولی برای غلظت ۱۰۰ میلی گرم قطر ناحیه مهار به ۱±۱۱ میلی متر رسید که در مقایسه با غلظت ۶/۲۵ میلی گرم و نیز DMSO از تاثیر ضد باکتریایی معنی دار این غلظت حکایت دارد($P<0.01$).

www.SID.ir

Archive of SID

جدول شماره ۱. فعالیت ضد باکتریایی غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر عصاره های آبی، اتانولی و متانولی A. Annua بر اساس در قطر نسبی هاله عدم رشد(RIZD) در روش بررسی انتشار دیسک.
داده ها بر اساس میانگین نتایج تکرار سه آزمایش مجزا بیان شده اند.

RIZD(%) / Bacteria	E. Coli	Staph. Aureous	Strep. Mutans	Enteroc. Fecalis
Aqueous Extraction	30	51	42	36
Ethanolic Extraction	46	69	46	60
Methanolic Extraction	50	59	44	71

جدول شماره ۱ درصد قطر هاله عدم رشد حاصل از غلظت ۱۰۰ میلی گرم عصاره های مختلف را برای میکروارگانیسم های مورد مطالعه نشان می دهد. عصاره آبی A.A کمتر از عصاره های اتانولی و متانولی ویژگی ضد میکروبی به وجود آورد. از نظر مقایسه، کمترین تاثیر ضد میکروبی عصاره آبی در مقابل اشرشیاکلی که معادل ۳۰ درصد دوز ۵ میکروگرم سیپروفلوکساسین و بیشترین تاثیر مهاری نیز در مقابل استافیلوکوک طلایی و معادل ۵۱ درصد دوز ۳۰ میکروگرم آنتی بیوتیک ونکومایسین ایجاد گردید. عصاره اتانولی A.A حدود ۶۹ درصد تاثیر ضد باکتریال ونکومایسین را بر علیه استافیلوکوک طلایی پدید آورد، سپس عصاره اتانولی با ایجاد ۶۰ درصد اثرات مهاری ونکومایسین بر آنتروکوکوس فکالیس فعالیت باکتریسیدال در مقابل این باکتری نشان داد. باکتری های استرپتوکوکوس موتانس و اشرشیاکلی با نشان دادن ۴۶ درصد مهار توسط عصاره اتانولی A.A در مرحله بعدی قرار دارند. به طور کلی ترتیب تاثیر مهاری غلظت ۱۰۰ میلی گرم عصاره اتانولی A.A به صورت استرپتوکوکوس موتانس=اشرشیاکلی>انتروکوکوس فکالیس>استافیلوکوک طلایی بوده است. در مقایسه اثرات ضد باکتریایی عصاره های مختلف A.A عصاره متانولی بیشترین تاثیر مهاری را بر آنتروکوکوس فکالیس ایجاد نمود که معادل ۷۱ درصد ونکومایسین سبب ناحیه مهار در اطراف این باکتری شده است و از نظر فعالیت باکتریسیدال، باکتری های استافیلوکوک طلایی و اشرشیا کلی و استرپتوکوکوس موتانس در مراحل بعدی حساسیت میکروبی در برابر عصاره متانولی A.A قرار داشتند.

بحث و نتیجه گیری

اثرات ضد میکروبی غلظت های مختلف عصاره های آبی، اتانولی و متانولی A.A مناطق اطراف شهر بابل در شرایط استاندارد آزمایشگاه بر ۴ سویه انتخابی از باکتری های درگیر در پاتوژنز بیماری های عفونی انسان مورد بررسی قرار گرفت. یافته های مطالعه حاضر نشان می دهند که عصاره های مختلف A.A اثرات آنتی باکتریال قابل مقایسه ای با آنتی بیوتیک باکتریسیدال مورد استفاده رایج به وجود می آورند.

هر سه عصاره آبی، اتانولی و متانولی در غلظت های ۶/۲۵ و ۱۲/۵ میلی گرم تاثیر ضد میکروبی کم، ولی در دوز های ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم فعالیت ضد باکتریایی بالایی در مقابل اشرشیاکلی ایجاد نمودند که

www.SID.ir

Archive of SID

از نظر مقایسه قدرت عمل باکتریسیدال، عصاره های اتانولی و متانولی موثرتر از عصاره آبی بوده اند. عصاره آبی A.A در غلظت ۱۰۰ میلی گرم معادل ۳۰ درصد، عصاره اتانولی ۴۶ درصد و عصاره متانولی ۵۰ درصد دوز ۵ میکروگرم سیپروفلوکساسین ویژگی ضد باکتریایی نشان دادند که از نظر مقایسه با DMSO ۱۰ درصد به عنوان کنترل منفی، هر سه عصاره توانستند به صورت معنی داری سبب مهار رشد اشرشیاکلی گردند(P=0). یافته های آزمون آماری مقایسه مقادیر هر یک از عصاره ها نیز نشان داد که عصاره های اتانولی و متانولی A.A بیشتر از عصاره آبی آن ویژگی ضد میکروبی در مقابل اشرشیاکلی به وجود آوردند، ولی تفاوت معنی داری بین تاثیر غلظت ۱۰۰ میکروگرم عصاره های اتانولی و متانولی مشاهده نشد. گزارش شده است که عصاره A.A حاوی ترکیبات ضد میکروبی متعددی نظیر فنل ها، سینئول، کامفر، کتون ها، کارواکرول و تیمول است که همگی این مواد از طریق تخریب دیواره سلولی و پروتئین های باکتری ها، تداخل با عمل آنزیم های غشایی و رونویسی DNA و RNA موجب تخریب میکروارگانیسم ها می شوند و فعالیت آنتی باکتریال عصاره های A.A به وجود این ترکیبات قابل انتساب است(۸،۲۱،۲۲).

نتایج نشان داده اند که در دوز پایین و ۶/۲۵ میلی گرم بر میلی لیتر هر سه عصاره به طور مشابهی خاصیت ضد میکروبی بر باکتری گرم مثبت استافیلوکوک طلایی نشان می دهند و تفاوت آماری معنی داری بین آن ها وجود ندارد، ولی هر سه عصاره در دوز های مختلف خود نسبت به نمونه کنترل منفی اثرات آنتی باکتریال قابل ملاحظه ای به وجود آورده اند. در دوز ۱۲/۵ میلی گرم، عصاره های اتانولی و متانولی موثرتر از عصاره آبی بوده اند، اما تفاوت آماری معنی داری در فعالیت ضد باکتریایی عصاره های اتانولی و متانولی مشاهده نشد. عصاره های اتاولی و متانولی A.A در دوز های ۱۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر به صورت قابل توجهی اثرات مهاری بر رشد استافیلوکوک طلایی به وجود آورده اند و از نظر قدرت اثرات مهاری ترتیب فعالیت آن ها به صورت آبی<متانولی<اتانولی بوده است. مقایسه آماری داده های دوز ۱۰۰ میلی گرم آن ها نشان می دهد که اختلاف معنی داری در درجه اثرات مهاری این عصاره ها بر رشد استافیلوکوک طلایی وجود دارد. این تفاوت در اثرات مهاری عصاره های مختلف A.A را می توان به تفاوت در اثر بخشی حلال های به کار گرفته شده در استخراج ترکیبات و مواد موثره بیولوژیکی گیاه نسبت داد. بر اساس یافته های Moure 2001 کیفیت عصاره های طبیعی و اثرات آنتی اکسیدانی آن ها نه تنها به مدت ذخیره سازی و نگهداری، منشاء جغرافیایی و زمان به عمل آوری آن ها بلکه به محیط و عوامل تکنولوژیکی مورد استفاده در عصاره گیری نیز بستگی دارد، نوع حلال مورد استفاده نیز یکی از عوامل مهمی است که در ایجاد اثرات آنتی اکسیدانی عصاره های گیاهی حائز اهمیت است، چرا که عوامل آنتی اکسیدان مختلف قطبیت های متفاوتی دارند(۲۳). نتایج تحقیق صورت گرفته توسط Appalasamy و همکاران نیز نشان داد که آرتیمیسین استخراج شده از گیاه A.A تهیه شده از سه کلون از مناطق مختلف در غلظت ۶ میلی گرم بر میلی لیتر نواحی مهار با قطرهای مشابهی در مقابل باکتری های استافیلوکوک طلایی و اشرشیاکلی به وجود آورد، ولی این اثرات مهاری به طور قابل توجهی کمتر از نتایج ما بوده است که این امر احتمالاً معرف آن است که مواد موثره مختلف موجود در عصاره خام اثرات هم افزا و تشدیدی بر یکدیگر ایجاد کرده و بدین ترتیب فعالیت ضد میکروبی کلی بالاتری پدید می آید(۱۲). در مطالعه Juteau و همکاران عصاره A.A در دوز مطالعه شده به طور قابل توجهی از رشد و تکثیر باکتری آنتروکوکوس هیرا جلوگیری نموده است، ولی فاقد تاثیر آنتی باکتریال بر اشرشیاکلی و استافیلوکوک طلایی بوده است(۱۳) که این یافته با نتایج به دست آمده از مطالعه حاضر تایید نمی شود.

در غلظت های بالا(۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر) هر سه عصاره آبی، اتانولی و متانولی به طور مشابهی فعالیت آنتی باکتریال بر علیه استرپتوکوکوس موتانس به وجود آوردند. اگر چه در این غلظت ها اختلاف معنی داری در فعالیت ضد میکروبی آن ها مشاهده نشد، ولی غلظت های ذکر شده عصاره A.A

www.SID.ir

Archive of SID

اثرات آنتی باکتریال مناسبی نشان داده اند، به نحوی که دوز ۱۰۰ میلی گرم عصاره های آبی، اتانولی و متانولی به ترتیب ۴۲ درصد، ۴۶ درصد و ۴۴ درصد دوز ۳۰ میکروگرم به ازای هر دیسک آنتی بیوتیک ونکومایسین تاثیر مهاری بر رشد استرپتوکوک موتانس به وجود آوردند که در مقایسه با DMSO ۱۰ درصد بر فعالیت ضد میکروبی مناسب آن ها دلالت دارد. گونه های گیاه Artemisia در کنار مواد آنتی اکسیدان حاوی غلظت های بالایی از مواد مفید موثر در حفظ فلور میکروبی طبیعی است، به نظر می رسد که این اثرات ضد میکروبی توسط انواعی از مکانیسم ها از جمله تداخل در زنجیره انتقال پروتونی میتوکندری ها، مختل نمودن پروتئین ها و لیپیدهای غشایی و مهار پمپ کلسیمی شبکه سارکوپلاسمی به وجود می آید(۲۴). خواص آنتی اکسیدانی عصاره A.A در مطالعات گوناگونی گزارش شده است، Juteau و همکاران نتیجه گرفتند که عصاره بخش های هوایی گیاه A.A در مقایسه با نمونه استاندارد آلفاتوکوفرول دارای حدود ۱۸ درصد آن فعالیت آنتی اکسیدانی است(۱۳). یافته های مطالعه قبلی ما نیز نشان می دهند که عصاره های مختلف برگ A.A نسبت به منحنی استاندارد ویتامین C و سولفات فروس دارای ظرفیت آنتی اکسیدانی کل معنی داری هستند(۲۵). اگر چه اثرات ضد میکروبی مطالعه حاضر در شرایط آزمایشگاه و در In Vitro به دست آمده اند، اما ممکن است بتوان این گونه استدلال کرد که اثرات آنتی اکسیدانی عصاره های A.A در شرایط داخل بدن با ایجاد و حفظ هومئوستاز برای عمل دستگاه ایمنی بدن می تواند به سایر مکانیسم های ضد میکروبی ناشی از عصاره برای دفاع از بدن در مقابل میکروارگانیسم های بیماری زا کمک نموده و از این طریق فعالیت ضد باکتریایی موثرتری به وجود آید.

داده های مربوط به اثرات غلظت های مختلف عصاره های A.A بر آنتروکوکوس فکالیس نشان می دهند که در غلظت های ۶/۲۵ و ۱۲/۵ میلی گرم عصاره آبی فاقد هر گونه تاثیر آنتی باکتریال بوده است، ولی در غلظت های بالاتر عصاره آبی توانست به طور معنی داری از رشد آنتروکوکوس فکالیس ممانعت به عمل آورد. به طور کلی یافته ها معرف آن هستند که در همه غلظت ها، عصاره آبی A.A کمتر از عصاره های اتانولی و متانولی فعالیت ضد میکروبی در مقابل باکتری مورد نظر ایجاد می کند، اما عصاره های اتانولی و متانولی به صورت وابسته به غلظت از رشد باکتری گرم مثبت آنتروکوک فکالیس جلوگیری نموده اند. از نظر مقایسه، عصاره اتانولی حدود ۶۰ درصد و عصاره متانولی ۷۱ درصد ونکومایسین تاثیر ضد باکتریایی به وجود آورده اند. در مطالعه دیگری که اثرات ضد میکروبی عصاره های مختلف A.A را مورد بررسی قرار داد نتایج نشان داده اند که هر یک از عصاره ها درجات متفاوتی از اثرات مهاری را بر باکتری های مختلف به وجود آورده اند قطر ناحیه مهار حاصل از عصاره اتانولی A.A بر استافیلوکوک طلایی، اشرشیاکلی و آنتروکوک فکالیس به ترتیب ۸، ۱۶ و ۱۰ میلی متر بود، ولی عصاره متانولی آن بر باکتری های ذکر شده به ترتیب ناحیه مهاری با قطرهای ۱۰، ۱۴ و ۸ میلی متر تشکیل داد. در همین مطالعه، عصاره آبی گیاه A.A در غلظت ۵۰ میلی گرم بر میلی لیتر نواحی مهاری با قطرهای به ترتیب ۱۸، ۱۹ و ۳۳ میلی متر بر باکتری های فوق ایجاد نمود که از نظر مقایسه اثرات عصاره های اتانولی و متانولی مشابه نتایج مطالعه ما بوده است، ولی نتایج حاصل از عصاره آبی نسبت به نتایج مطالعه ما اثرات ضد میکروبی بیشتری بر این باکتری ها ایجاد نموده است(۸). با توجه به درجات متفاوت اثرات آنتی باکتریال عصاره های مختلف بر روی سویه های میکروبی به نظر می رسد که اثرات ضد باکتریایی عمده بر روی هر باکتری توسط ماده و یا مواد خاصی به وجود می آیند که این مواد به واسطه خواص شیمیایی متفاوت خود بیشتر و به طور موثرتر توسط نوع خاصی از حلال استخراج می گردند. بنا بر این با استفاده از شیوه های مختلف استخراج و با استفاده از حلال های مختلف ممکن است بتوان به طور موثرتری مواد بیولوژیک دارای خواص ضد میکروبی را از این عوامل طبیعی که به وفور در محیط یافت می شوند، به دست آورد و از این طریق به تهیه فرآورده های جدید دارای ویژگی های آنتی باکتریال دست یافت. یافته های نشان می دهند که هر سه

www.SID.ir

Archive of SID

عصاره آبی، اتانولی و متانولی بخش های هوایی برگ و گل گیاه A.A با درجات مختلف فعالیت ضد باکتریایی به وجود می آورند که از نظر مقایسه کمترین تاثیر مربوط به عصاره آبی و بیشترین تاثیر توسط عصاره اتانولی به وجود آمده است. اگر چه گاهی عصاره متانولی فعالیت ضد میکروبی بیشتر ایجاد می نمود، ولی اغلب فعالیت آن در حد متوسط بود. بر اساس یافته ها می توان نتیجه گرفت که احتمالاً هر یک از عصاره ها بیشتر حاوی ماده و یا مواد ضد میکروبی خاصی است که اثرات جمعی آن ها دلیل فعالیت ضد باکتریایی نهایی هر عصاره بوده است، ولی به علت تفاوت در کارآیی حلال ها در جداسازی مواد موثره، درجات متفاوتی از خواص آنتی باکتریال به دست آمده است.

سپاسگزاری

بدین وسیله گروه نویسندگان از همکاری صمیمانه پرسنل آزمایشگاه سپید و آزمایشگاه گروه قارچ شناسی و انگل شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی بابل که در انجام این پژوهش کمال همکاری را داشتند، تشکر به عمل می آید. لازم است تشکر صمیمانه خود را از آقای دکتر رجب نیا که سویه های باکتری های مورد مطالعه را در اختیار ما گذاشته اند، ابراز نماییم. این مقاله حاصل پایان نامه دوره کارشناسی ارشد رشته زیست شناسی گیاهی خانم حکیمه رضایی می باشد.

References

1. Ahameethunisa AR, Hopper W. In vitro antimicrobial activity on clinical microbial strains and antioxidant properties of Artemisia parviflora. Ann Clin Microbiol Antimicrob2012;11:30.
2. Hancock EW. Mechanisms of action of newer antibiotics for Gram-positive pathogens. Lancet Infect Dis2005;5:209–18.
3. Uniyal SK, Singh KN, Jamwal P, Lal B. Traditional use of medicinal plants among the tribal communities of Chhota Bhangal, Western Himalayan. J Ethnobiol Ethnomed2006;2: 14.
4. Shah PM. The need for new therapeutic agents what is in the pipeline? Clin Microbiol Infect2005; 11:36-42.
5. Rojas JJ, Ochoa VJ, Ocampo SA, Munoz JF. Screening for antimicrobial activity of ten medicinal plants used in Colombian folkloric medicine: A possible alternative in the treatment of non-nosocomial infections. BMC Complement Altern Med 2006; 6:2.
6. Djeussi DE, NoumedemJ AK, Seukep JA, Fankam AG, Voukeng IK, Tankeo SB, et al. Antibacterial activities of selected edible plants extracts against multidrug-resistant gram-negative bacteria. BMC Complement Altern Med 2013;13:164.
7. Sagdic O, Karahan AG, Ozcan M, Ozcan G. Note effect of some spices extracts on bacterial inhibition. Food Sci Technol Int 2003;9:353-9.
8. Habibi Z, Ghanian S, Ghasemi S, Yousefi M. Chemical composition and antibacterial activity of the volatile oil from seeds of Artemisia annua L. from Iran. Nat Prod Res2013;27:198-200.
9. Mahesh B, Satish S. Antimicrobial activity of some important medicinal plant against plant and human pathogens. World Agricultur Sci2008;4:839-43.
10. Rawani A, Pal S, Chandra G. Evaluation of antimicrobial properties of four plant extracts against human pathogens. Asian Pacif J Trop Biomed2011;2:71-5.
11. Balandrin MF, Klocke JA, Wurtele ES, Bollinger WH. Natural plant chemicals sources of industrial and medicinal materials. Science1985;228:1154-60.
12. Appalasamy S, Lo KY, Chng SJ, Nornadia K, Othman AS, Chan LK. Antimicrobial activity of artemisinin and precursor derived from in vitro plantlets of artemisia annua L. Biomed Res Int 2014;2014:1-7.
13. Juteau F, Masotti V, Bessiere JM, Dherbomez M, Viano J. Antibacterial and antioxidant activities of Artemisia annua essential oil. Fitoterapia2002;73:532–5.
14.Mashhadian NV. Rakhshandeh H. Antimicrobial and antifungal effects of nigella sativa extracts against S. aureus, P. aeroginosa and C. albicans. Pak J Med Sci 2005;21:47-52.

www.SID.ir

Archive of SID

15. Ahameethunisa AR, Hopper W. Antibacterial activity of Artemisia nilagirica leaf extracts against clinical and phytopathogenic bacteria. BMC Complement Altern Med 2010;10:6.
16. Islam MA, Alam MM, Choudhury ME, Kobayashi N, Ahmed MU. Determination of minimum inhibitory concentration (MIC) of Cloxacillin for selected isolates of Methicillin–resistant Staphylococcus aureus (MRSA) with their antibiogram. Bangl J Vet Med 2008;6:121–6.
17. Jorgensen JH. Antimicrobial susceptibility testing of bacteria that grow aerobically. Infect Dis Clin North Am1993;7:393-409.
18. Osato MS. Antimicrobial susceptibility testing for Helicobacter pylori: sensitivity test results and their clinical relevance. Curr Pharm Des2000;6:1545-55.
19.Esimone CO, Adikwu MU, Okonta JM. Preliminary antimicrobial screening of the ethanolic extract from the lichenUsnea subfloridans (L). J Pharmaceut Res Dev1998;3: 99-101.
20. Salzer UJ. The analysis of essential oils and extracts (oleoresins) from seasonings-a critical review. CRC Crit Rev Food Sci Nutr1977;9:345-73.
21.Gupta PC, Dutta B, Pant D, et al. In vitro antibacterial activity of Artemisia annua Linn. growing in India. Int J Green Pharm2009;3:255-8.
22. Friedman M, Henika PR, Mandrell RE. Bactericidal activities of plant essential oils and some of their isolated constituents against Campylobacter jejuni, Escherichia coli, Listeria monocytogenes, and Salmonella enterica. J Food Prot 2002; 65: 1545-60.
23. Moure A, Franco D, Sineiro J, Domingguez H, Nunez MJ, Lema JM. Antioxidant activity of extracts from Gevuina avellana and Rosa rubiginosa defatted seeds. Food Res Int2001;34:103-9.
24.Brisibe EA, Umoren UE, Owai PU, Brisibe F. Dietary inclusion of dried Artemisia annua leaves for management of coccidiosis and growth enhancement in chickens. Af J Biotechnol2008;7:4083-92.
25.Baradaran M, Ashrafpour M, Rezaee H, Sefidgar AA, Sharifi H. [Antioxidant activity of differentextracts of the Artemisia Annua growing in an area of Babol city]. Sabzavar Uni Med Sci J 2014; 21:529-39.(Persian)

www.SID.ir

Archive of SID

Survey of the Antibacterial Properties of Aqueous Ethanolic and Methanolic Extraction of Artemisia Annua Around the City of Babol

Ashrafpour M[1], Rezaei H[2], Sefidgar A[3], Baradaran M [4], Sharifi H[5]*

(Received: March 9, 2015 Accepted: June 30, 2015)

Abstract

Introduction: Bacterial resistance to antibiotics and adverse effects of food preservatives and additives are common problems of health and therapeutic systems that solve the problem and controlling them necessitate achieving a new group of antimicrobial compounds. In this regard, compounds derived from plant extracts as potential sources are of great importance.

Materials & methods: The study has been carried out in two different stages including extracting and determining anti-bacterial properties of aqueous, ethanolic and methanolic extractions against four strains of bacteria including Escherichia coli, Enterococcus faecalis, Staphylococcus aureus and Streptococcus mutans. Disk diffusion and also well plate methods and afterwards measuring the diameter of inhibition zones were used as antimicrobial activity indicators. The antimicrobial activity of different extracts concentration was compared versus blank sample and common antibiotics that are used to treat bacterial infections.

Findings: All three of aqueous, ethanolic and methanolic extracts of A.A could create significant anti-bacterial properties compared with blank and antibiotic samples. At a concentration of 100 mg/ ml aqueous extract equivalent to 30% of ciprofloxacin but methanol extracts with the greatest impact about 71% of Vancomycin were creating inhibitory activity against Escherichia coli and Enterococcus faecalis respectively. Minimum Inhibitory effect was resulted by aqueous extract against Escherichia coli and Enterococcus faecalis but the inhibitory effects of these extracts were significant in comparison with blank sample ($p<0.01$).

Discussion & Conclusions: Aqueous, ethanolic and methanolic extrtacts of A.A showed varying degrees of anti-bacterial properties that this effect depends on the concentration used. So, probably this inhibitory effect on the bacterial activity is attributable to materials that the adequacy of their extracting depends on used solvent features. It might be achieved to new antimicrobial compounds by identification and extraction of these materials.

Keywords: Artemisia Annua, Extraction, Antibacterial, Antimicrobial, Babol

1.Dept of Physiology and Neuroscience Research Center, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran
2. Babol Education and Development Organization, Babol, Iran
3. Dep of Fungology and Parasitology, Faculty of Medicine, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran
4. Dept of Pharmacology and Neuroscience Research Center, Faculty of Medicine, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran
5. Dept of Foreign Languages, Faculty of Medicine, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran
** Cooresponding author E-mail:sepid_med_lab@yahoo.com*

www.SID.ir