Archive of SID

بررسی اثرات مهاری عصاره گیاه رزماری بر روی باکتری های گرم منفی و مثبت در شرایط آزمایشگاهی

سلمان احمدی اسب چین*[۱]، محمد جواد مصطفی پور رمی[۲]، صدیقه رجایی ملکی[۱]

۱) گروه زیست شناسی سلولی و مولکولی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران

۲) گروه میکروب شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران

تاریخ دریافت: ۹۳/۸/۷ **تاریخ پذیرش: ۹٤/۹/۱٤**

چکیده

مقدمه: استفاده از خواص ضد میکروبی گیاهان دارویی می تواند مشکلات رایج در استفاده از آنتی بیوتیک ها را برطرف کند. از این رو هدف از این مطالعه، تعیین اثرات ضد باکتریایی عصاره گیاه رزماری بر روی باکتری های منتخب در شرایط آزمایشگاهی می باشد.

مواد و روش ها: اسانس روغنی نمونه بعد از خشک شدن گیاه در سایه، به روش تقطیر با آب و با استفاده از دستگاه کلونجر جداسازی شد. اثرات ضد باکتریایی اسانس روغنی توسط روش انتشار از دیسک وتهیه رقت های متوالی ارزیابی گردید. سپس به منظور کنترل و استاندارد بودن روش، از دیسک های آنتی بیوتیکی جنتامایسین و استرپتومایسین و سویه های استاندارد باکتریال استفاده شد.

یافته های پژوهش: بر اساس نتایج حاصل، Proteus mirabilis و Enterococcus faecalis به ترتیب حساس ترین و مقاوم ترین باکتری ها نسبت به رقت های ۱، ۱/۲ و ۱/۴ و Enterococcus faecalis وEscherichia coli حساس ترین باکتری ها نسبت به رقت های ۱/۸، ۱/۱۶، ۱/۳۲ و ۱/۶۴ اسانس بودند. ارزیابی نتایج روش انتشار از دیسک در مقایسه با دیسک های آنتی بیوتیک، تاثیر این گیاه را در مقایسه با دیسک های جنتامایسین و استرپتومایسین، در مقابل رشد پنج سویه Staphylococcus aureus ATCC1885، Staphylococcus epidermidis ATCC 2405، Enterococcus faecalis ATCC2321، Escherichia coli ATCC 1652 و Proteus mirabilis ATCC 2601 نشان داد.

بحث و نتیجه گیری: نتایج این مطالعه نشان می دهد که اسانس گیاه مورد مطالعه می تواند جایگزین داروهای شیمیایی برای درمان عفونت ها شود. البته همه اثرات این اسانس ها باید به دقت در in vivo و in vitro بررسی شوند.

واژه های کلیدی: رزماری، اثرات ضد باکتریال، اسانس، شرایط آزمایشگاهی، سویه های پاتوژن

*نویسنده مسئول:گروه زیست شناسی سلولی و مولکولی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مازندران، بابلسر

Email:sahmadyas@yahoo.fr

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

استفاده از ترکیبات گیاهی برای درمان بیماری ها یک روش قدیمی در قسمت های مختلفی از جهان به خصوص کشورهای توسعه یافته است. در قرن حاضر به دلایلی هم چون افزایش عوارض ناشی از استفاده داروهای شیمیایی و مقاوم شدن هر چه بیشتر باکتری ها به این مواد توجه بسیاری به گیاهان دارویی با خواص ضد میکربی که می تواند مشکلات رایج در استفاده از آنتی بیوتیک ها را برطرف سازند معطوف شده است(۲۳). اسانس های گیاهان به عنوان عوامل مهم ضد میکروبی طبیعی گزارش شده اند. از جمله، اثر عصاره آبی برگ گیاه اسکروفولاریا استریاتا، اثر مهاری عصاره آبی پیاز تابستانه و اسانس رزماری به عنوان منبعی از اسانس های ضد میکروبی با ترکیبات مشخص شیمیایی معرفی گردیده است (۱،۲،۲۲،۲۳،۲۴). اسانس رزماری از ترکیباتی است که خواص ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی آن در بسیاری از موارد به اثبات رسیده است و ترکیبات ضد میکروبی مانند ترکیبات فنولی به وفور در آن یافت می شود. از اسانس رزماری در لوازم آرایشی و بهداشتی نیز استفاده می شود(۴).

گیاه رزماری حاوی اولئورزین و تانن، پینن، کامفر، بورنیل استات و... می باشد. رزماری در واقع شامل مقادیر متغیری از مواد آروماتیک و فرار است که می توان به فلاونوییدهایی مانند دیوسمتین، هیسپیدولین و آپی ژن و گروه فنلی مانند کافئیک، کلروژنیک و رزمارینیک اسید اشاره کرد. هم چنین رزماری حاوی مقادیر زیادی از سالیسیلات ها می باشد(۳،۵،۶،۷). در طب سنتی از این گیاه جهت اثرات ضد آسم، هضم کننده غذا، آرام بخش، برطرف کننده سردرد(۸) اختلالات گردش خون، افزایش قدرت بینایی، ضد رماتیسم(۹) و محرک حافظه(۱۰) استفاده می شود. هم چنین اثرات فارماکولوژیکی متعددی از جمله اثر آنتی اکسیدانتی(۱۱) تحریک فاکتور رشد عصبی(۱۲) فعالیت ضد میکروبی و ضد ویروسی(۷) و مهار سمیت کبدی (۱۳) برای این گیاه گزارش شده است. در مطالعه کنونی خواص ضد باکتری اسانس گیاه رزماری بر روی باکتری های گرم مثبت و گرم منفی منتخب با استفاده از روش دیسک گذاری تعیین و مقایسه شده است.

مواد و روش ها

استخراج اسانس های روغنی: سرشاخه های برگ گیاه رزماری(Rosmarinus officinalis) در بهار ۱۳۸۹ از اطراف کوه های استان ایلام جمع آوری شد. بعد از شناسایی و تایید نام علمی گیاه توسط گروه باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه ایلام، بخش های هوایی این گیاه در محلی تاریک و خشک نگه داری و به طور کامل خشک گردید و پس از خشک کردن، جهت استخراج اسانس مورد استفاده قرار گرفت. اسانس روغنی(essential oil) نمونه بعد از خشک کردن در سایه، که مایعی زرد رنگ یا زرد روشن و دارای بوی مطبوعی بود به روش تقطیر با آب و با استفاده از دستگاه کلونجر جداسازی شد. در هر بار اسانس گیری، یکصد گرم از بخش های هوایی گیاه به صورت پودر شده در بالون یک لیتری دستگاه کلونجر ریخته شد و مقداری آب که ۴ تا ۶ برابر وزن گیاه بود، برای نرم شدن بافت های گیاه به آن اضافه گردید. سپس اسانس موجود در آن به مدت ۵ ساعت بعد از تقطیر، جمع آوری شده و پس از آب گیری با سولفات سدیم و حل شدن در حلال دی متیل سولفوکساید (DMSO) اسانس گیاه جهت بررسی های ضد باکتریایی مورد استفاده قرار گرفت(۱۴،۱۵).

سویه های میکربی: سویه های استاندارد باکتری های مورد آزمایش از گروه میکروب شناسی موسسه سرم سازی رازی کرج تهیه گردید. این سویه ها عبارت بودند از: استافیلوکوکوس اورئوس ATCC 1885، اشرشیاکلی ATCC 1652، استافیلوکوکوس اپیدرمیس ATCC 2405، انتروکک فکالیس ATCC 2321 و پروتئوس میرابیلیس ATCC 2601. دلیل استفاده از این سویه ها بیماری زا بودن آن ها می باشد.

تهیه سوسپانسیون میکروبی: از تمام سویه ها در محیط کشت مایع مولر هینتون براث، سوسپانسیون میکروبی تهیه گردید. برای هر سری آزمایش، کشت تازه ۲۴ ساعته تهیه شد. برای این کار یک لوپ از هر میکروب در cc ۵ محلول محیط کشت فوق تلقیح و به

www.SID.ir

Archive of SID

مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی گراد قرار گرفت. با افزودن نرمال سالین ۰/۹ درصد به سوسپانسیون و مقایسه کدورت آن با محلول ۰/۵ مک فارلند، سوسپانسیونی با غلظت تقریبی $۱/۵\times۱۰^{۸}$ میکروارگانیسم در هر میلی لیتر به دست آمد که از آن برای تلقیح در محیط کشت مولر-هینتون آگار استفاده گردید(۱۶).

بررسی خاصیت ضد باکتری اسانس: برای تعیین حساسیت کیفی و کمی، سوسپانسیون تهیه شده مورد استفاده قرار گرفت. در روش کیفی از روش انتشار دیسک(Disk diffusion) به شیوه کربی بائر(Kirby Bauer) استفاده شد که طی آن از سوسپانسیون میکروبی استاندارد شده به روش چمنی در سطح محیط کشت مولرهینتون آگار(Muller Hinton agar) کشت انجام گردید. سپس برای بررسی خواصی ضد باکتریایی، دیسک های کاغذی بلانک(ساخت پادتن طب) با فاصله معین از یکدیگر و از لبه پلیت روی آگار قرار داده شد و حدود ۲۰ میکرولیتر از غلظت های ۱، ۱/۲، ۱/۴، ۱/۸، ۱/۱۶، ۱/۳۲، ۱/۶۴، اسانس در محلول DMSO، روی دیسک ها اضافه گردید. از دیسک های آنتی بیوتیک جنتامایسین و استربتومایسین شرکت پاتن طب با غلظت µg/ml ۱۰ به عنوان کنترل مثبت استفاده شد. سپس محیط های کشت حاوی باکتری ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد قرار داده شد. با اندازه گیری قطر هاله های تشکیل شده در اطراف صفحه ها، نتایج مورد بررسی قرار گرفت و نتایج حاصل از آنتی بیوتیک ها با جداول CLSI مقایسه گردید. جهت حصول اطمینان هر یک از غلظت های مختلف اسانس و آنتی بیوتیک ها، این آزمایش ها برای هر سویه باکتریایی، سه بار تکرار شد(۱۷).

آزمایش های کمی برای تعیین حداقل غلظت مهارکننده MIC(Minimal Inhibitory Concentration) و حداقل غلظت کشنده MBC (Minimal Bactericidal Concentration) اسانس ها انجام شد. به این ترتیب که آزمایش MIC در پلیت ۹۶ خانه استریل و با روش براث میکرودایلوشن انجام گردید(۱۷). ابتدا از مولر هینتون بـــراث(مرک آلمان) µl ۱۰۰ داخل چاهک های مربوط به رقت های مورد نظر میکروپلیت ریخته شده و سپس به اولین چاهک µl ۱۰۰ اسانس اضافه گردید. البته در این روش اصلاحاتی صورت گرفته که مطابق روش Mahon و CLSI می باشد. چاهک ها از خانه دوم به همین ترتیب تا خانه هفتم رقیق شدند در آخر به همه چاهک های µl ۱۰۰ سوسپانسیون رقیق شده معادل لوله نیم مک فارلند اضافه گردید. بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به وسیله پایه پلیت tray-reading stand که به همین منظور ساخته شده، کف پلیت زیر نور در آینه مشاهده گردید. وجود کدورت که نشان دهنده رشد یا عدم رشد باکتری است. در جدول مخصوص یادداشت گردید. طبق تعریف غلظت آخرین(رقیق ترین) چاهک که هیچ کدورتی در آن ایجاد نشده است معادل MIC قرار داده شده است. خانه کنترل اسانس، محیط کشت و میکروب نیز جداگانه منظور شد. برای آزمایش MBC همه چاهک های فاقد کدورت جداگانه بر روی محیط کشت نوترینت آگار کشت داده شد. بعد از ۲۴ ساعت کمترین غلظتی از اسانس که باکتری در آن رشد نکرده به عنوان غلظت کشندگی MBC گزارش گردید. از رقتی که به عنوان MIC ذکر شد تا رقت ۱ بر روی محیط نوترینت آگار کشت داده شد و بعد از ۲۴ ساعت کمترین غلظتی از اسانس که باکتری در آن رشد نکرده به عنوان غلظت کشندگی MBC گزارش گردید.

تجزیه و تحلیل آماری داده ها: بررسی خواص ضد میکروبی در سه تکرار و در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. برای تجزیه واریانس داده ها از نرم افزار SAS و برای مقایسه میانگین داده ها از آزمون چند دامنه دانکن در سطح اطمینان ۹۹ درصد استفاده شد.

اگر مواد موثر خالص شده رزماری استفاده نشود و یا حداقل غلظت مواد تشکیل دهنده اسانس مشخص نباشد، مقایسه قطر هاله آن ها با آنتی بیوتیک ها با غلظت مشخص درست نبوده و نتایج قابل مقایسه نخواهد بود. این موضوع برای روش میکرودایلوشن هم صادق است.

یافته های پژوهش

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده های مربوط(جدول شماره ۱) نشان داد که اثر باکتری و رقت

www.SID.ir

Archive of SID

های مختلف و هم چنین اثر متقابل بین باکتری و رقت در سطح یک درصد معنادار می باشد.

تاثیر رقت های مختلف اسانس بر هر یک از باکتری ها: تجزیه و تحلیل آماری داده ها نشان داد که تفاوت بین میانگین های قطر هاله ممانعت از رشد که حاصل از تاثیر رقت های متفاوت اسانس گیاه رزماری برای پنج باکتری مختلف است معنادار می باشد($P<0.01$)(به استثناء رقت های ۱/۳۲ و ۱/۶۴)(جدول شماره ۲ و ۳، نمودار شماره ۱) بررسی قطر هاله ممانعت از رشد حاصل از تاثیر رقت های مختلف اسانس رزماری بر روی هر باکتری و سپس مقایسه باکتری ها با هم نشان داد که رقت ۱ مناسب ترین رقت جهت بازدارندگی از رشد برای کلیه باکتری ها است(جدول شماره ۳ و نمودار شماره ۱).

مقایسه اثر اسانس رزماری در رقت ۱ بر مهار رشد پنج باکتری مختلف با یکدیگر: تجزیه و تحلیل داده ها نشان داد که رقت ۱ از اسانس رزماری بیشترین اثر بازدارندگی را بر P.mirabilis داشته است که تفاوت آن با دیگر باکتری ها معنی دار است($P<0.01$) پس از آن بیشترین اثر بازدارندگی را به ترتیب بر S.aureus، S.epidermis، E.coli و E.fecalis داشت که تفاوت آن ها هم با همدیگر معنی دار می باشد($P<0.01$) (جدول شماره ۳) با توجه به تجزیه و تحلیل آماری داده ها می توان اثر بازدارنده رقت ۱ اسانس را بر رشد باکتری ها به صورت زیر با هم مقایسه کرد.

P.mirabilis > S.aureus > S.epidermis > E.coli > E.fecalis

مقایسه اثر اسانس رزماری در رقت ۱/۲ بر مهار رشد پنج باکتری مختلف با یکدیگر: مقایسه میانگین های قطر هاله ممانعت از رشد و تجزیه و تحلیل داده ها مشخص کرد که رقت ۱/۲ از اسانس رزماری بیشترین اثر بازدارندگی را بر S.aureus و P.mirabilis داشته که تفاوت آن با دیگر باکتری ها معنی دار می باشد($P<0.01$). پس از آن بیشترین اثر بازدارندگی را بر E.coli و S.epidermis داشت که تفاوت معنی داری با هم نداشتند($P<0.01$). ولی تفاوت آن ها با S.aureus و P.mirabilis و هم چنین E.fecalis معنی دار بوده است($P<0.01$)(جدول شماره ۳).

S.aureus> P.mirabilis > S.epidermis = E.coli > E.fecalis

مقایسه اثر اسانس رزماری در رقت ۱/۴ بر مهار رشد پنج باکتری مختلف با یکدیگر: آنالیز داده ها نشان داد که رقت ۱/۴ از اسانس بیشترین اثر بازدارندگی را روی P.mirabilis و بعد از آن E.coli داشته است که تفاوت آن ها با هم و هم چنین با دیگر باکتری ها معنی دار است($P<0.01$). اما بین اثر بازدارندگی رقت ۱/۴ اسانس بر S.aureus، S.epidermis و E.fecalis تفاوت معنی داری وجود نداشت($P<0.01$) (جدول شماره ۳).

P.mirabilis > E.coli > S.epidermis = S.aureus = E.fecalis

مقایسه اثر اسانس رزماری در رقت ۱/۸ بر مهار رشد پنج باکتری مختلف با یکدیگر: تجزیه و تحلیل آماری داده ها نشان داد اثر بازدارندگی رقت ۱/۸ از اسانس در مورد E.fecalis و E.coli بیشتر از سایر باکتری ها می باشد که تفاوت آن ها با هم معنی دار نبوده($P<0.01$) ولی تفاوت آن با دیگر باکتری ها معنی دار می باشد($P<0.01$). پس از آن بیشترین اثر بازدارندگی بر S.epidermis، P.mirabilis و S.aureus وجود داشت(جدول شماره ۳).

مقایسه اثر اسانس رزماری در رقت ۱/۱۶ بر مهار رشد پنج باکتری مختلف با یکدیگر: آنالیز داده ها نشان داد که بیشترین اثر بازدارندگی رقت ۱/۱۶ اسانس بر روی E.fecalis و E.coli می باشد و تفاوت آن ها هم با یکدیگر و هم با سایر باکتری ها معنی دار بوده($P<0.01$) اما رقت ۱/۱۶ بر روی سایر باکتری ها تاثیری نداشته است(جدول شماره ۳).

مقایسه اثر اسانس رزماری در رقت ۱/۳۲ و ۱/۶۴ بر مهار رشد پنج باکتری مختلف با یکدیگر: آنالیز داده ها نشان داد اثر بازدارندگی رقت های فوق بر روی E.coli و E.fecalis به یک میزان موثر است و تفاوت آن ها با هم معنی دار نبوده($P<0.01$) ولی نسبت به دیگر باکتری معنی دار می باشد($P<0.01$). البته این رقت ها بر سه باکتری دیگر موثر نبود. بررسی قطر هاله ممانعت از رشد حاصل از تاثیر رقت های مختلف اسانس رزماری در روی هر باکتری و سپس مقایسه باکتری ها با هم نشان داد که رقت ۱ مناسب ترین

www.SID.ir

Archive of SID

غلظت جهت بازدارندگی از رشد برای کلیه باکتری ها می باشد بنا بر این در مراحل بعد تاثیر ضد باکتریایی اسانس گیاه در رقت های مختلف با تاثیر بازدارنده آنتی بوتیک در این رقت مورد استفاده قرار گرفته است(جدول شماره ۴ و نمودار شماره ۱).

مقایسه تاثیر ضد باکتریایی اسانس گیاه در رقت های مختلف با تاثیر بازدارنده آنتی بوتیک: تجزیه تحلیل آماری داده ها طبق جدول شماره ۳ نشان داد که اثر بازدارندگی اسانس گیاه رزماری در رقت ۱ بر P.mirabilis به طور معنی داری($P<0.01$) از اثر بازدارندگی جنتامایسین و استرپتومایسن بر این باکتری بیشتر بود. در مورد باکتری E.coli، تاثیر بازدارنده رقت ۱ اسانس از جنتامایسین بیشتر و از استرپتومایسین که بر این باکتری اثر بازدارندگی نداشت، خیلی بیشتر بوده است(جدول شماره ۳). برای باکتری S.aureus اثر بازدارندگی رقت ۱ اسانس از جنتامایسین تقریباً بیشتر از استرپتومایسین به طور معنی داری بیشتر است($P<0.01$). در مورد S.epidermis و E.fecalis اثر بازدارندگی جنتامایسین از رقت ۱ اسانس به طور معنی داری بیشتر بوده($P<0.01$) و تاثیر رقت ۱ اسانس از استرپتومایسین که بر این باکتری ها اثر بازدارندگی نداشت، بیشتر است(جدول شماره ۳).

همان گونه که نتایج این پژوهش نشان داد، اسانس گیاه رزماری دارای خاصیت ضد باکتریایی است که این خصوصیت بسته به رقت اسانس و جنس باکتری متفاوت می باشد. به طوری که بر حسب تجزیه تحلیل آماری داده ها مطابق با جدول شماره ۲ نشان داد که بیشترین اثر بازدارندگی اسانس رزماری بر روی باکتری پروتئوس میرابیلیس و کمترین اثر بر روی باکتری انتروکوکوس فکالیس بود. هم چنین اسانس گیاه رزماری، در رقت ۱/۸ بر اشرشیاکلی و انتروکوکوس فکالیس هم اثر باکتریواستاتیکی و هم اثر باکتریوسیدال داشت ولی اثر باکتریوسیدال رقت فوق بر این باکتری در رقت ۱/۴ مشاهده گردید. در مورد باکتری پروتئوس میرابیلیس و استافیلوکوکوس اورئوس، رقت ۱/۴ از اسانس هم اثر باکتریواستاتیکی و هم اثر باکتریوسیدال داشته است(جدول شماره ۵).

جدول شماره ۱. نتایج تجزیه واریانس گیاه رزماری

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات
باکتری	۴	۲۶/۶۴**
رقت	۸	۳۶۷/۶۸**
باکتری*رقت	۳۲	۱۸/۵۶**
خطا	۹۰	۰/۱۹۲
کل	۱۳۴	
CV% (ضریب تغییرات)	۸/۵۴	

** معنی دار در سطح یک درصد احتمال

جدول شماره ۲. مقایسه میانگین اثر رقت های مختلف بر روی هر باکتری و مقایسه آن با باکتری های دیگر

سویه باکتری	میانگین
اشرشیاکلی	۴/۱۸ D
استافیلوکوکوس ارئوس	۵/۷۴ B
استافیلوکوکوس اپیدرمیس	۵/۲۹C
انتروکوکوس فکالیس	۴/۰۷D
پروتئوس میرابیلیس	۶/۳۷A

www.SID.ir

Archive of SID

جدول شماره ۳. مقایسه میانگین قطر هاله ممانعت از رشد پنج باکتری مختلف که تحت تاثیر رقت های مختلف و آنتی بوتیک ها

باکتری	رقت	میانگین	باکتری	رقت	میانگین
اشرشیاکلی	۱	E ۹/۶۷	استافیلوکوکس اپیدرمیس	۱/۱۶	–
	۱/۲	H۵/۶۷		۱/۳۲	–
	۱/۴	IJ۳/۶۷		۱/۶۴	–
	۱/۸	JK۳		جنتامایسین	B۱۵/۶۷
	۱/۱۶	KL۲/۶۷		استرپتومایسین	F۸/۶۷
	۱/۳۲	LM۲		۱	F۸/۳۳
	۱/۶۴	LM۲		۱/۲	I۴/۳۳
	جنتامایسین	EF۹		۱/۴	JK۳/۳۳
	استرپتومایسین	–		۱/۸	JK۳
استافیلوکوکس اورئوس	۱	BC۱۵	انتروکوکوس فکالیس	۱/۱۶	LM۲
	۱/۲	EF۹		۱/۳۲	LM۲
	۱/۴	JK۳		۱/۶۴	LM۲
	۱/۸	N۱		جنتامایسین	D۱۱/۶۷
	۱/۱۶	–		استرپتومایسین	–
	۱/۳۲	–		۱	A۱۹/۳۳
	۱/۶۴	–		۱/۲	F۸/۳۳
	جنتامایسین	B۱۵/۶۷		۱/۴	I۴/۳۳
	استرپتومایسین	G۶/۶۷	پروتئوس میرابیلیس	۱/۸	MN۱/۶۷
استافیلوکوکس اپیدرمیس	۱	D۱۲/۳۲		۱/۱۶	–
	۱/۲	H۵/۳۴		۱/۳۲	–
	۱/۴	JK۳		۱/۶۴	–
	۱/۸	KL۲/۶۷		جنتامایسین	C۱۴/۶۷
				استرپتومایسین	EF۹

حروف مشابه بیان کننده عدم وجود اختلاف معنی دار است

جدول شماره ٤. نتایج مقایسه میانگین بین رقت های اسانس و آنتی بیوتیک ها

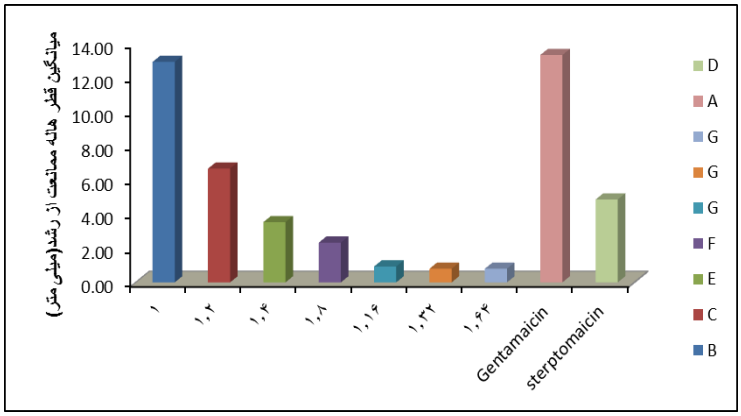
رقت ها	میانگین
۱	۱۲/۹۳B
۱/۲	۶/۶۷C
۱/۴	۳/۵۳E
۱/۸	۲/۳۳F
۱/۱۶	۰/۹۳G
۱/۳۲	۰/۸G
۱/۶۴	۰/۸G
جنتامایسین	۱۳/۳۳A
استرپتومایسین	۴/۸۶D

www.SID.ir

Archive of SID

جدول شماره ۵. تعیین میزان حداقل غلظت مهارکننده رشد MIC حداقل غلظت کشنده رشد MBC اسانس رزماری بر روی پنج باکتری مختلف

باکتری	MIC	MBC
اشرشیاکلی	۱/۸	۱/۸
استافیلوکوکوس اورئوس	۱/۴	۱/۴
استافیلوکوکوس اپیدرمیس	۱/۸	۱/۴
انتروکوکوس فکالیس	۱/۸	۱/۸
پروتئوس میرابیلیس	۱/۴	۱/۴



نمودار شماره ۱. نتایج مقایسه میانگین بین رقت های اسانس و آنتی بیوتیک ها

بحث و نتیجه گیری

هر روزه مقاومت باکتری ها در برابر آنتی بیوتیک ها بیشتر می شود. تحقیق در مورد کشف مواد جدید با خواص ضد میکروبی قوی تر همپای افزایش مقاومت در باکتری ها رو به گسترش است و از آن جا که اسانس ها و عصاره گیاهی از دیر باز در درمان بیماری ها مورد استفاده قرار می گرفتند به عنوان یک انتخاب مناسب برای این نوع تحقیقات به شمار می روند. اسانس های گیاهی با اثرات ضد میکروبی بر روی طیف گسترده ای از ارگانیسم ها و هم چنین قابلیت مصارف غذایی آن ها در برخی موارد و کمتر بودن اثرات جانبی آن ها نسبت به آنتی بیوتیک های رایج می توانند در نهایت جایگزین آنتی بیوتیک ها شوند(۱۸). در راستای بررسی اثرات ضد میکروبی اسانس های گیاهی، اثرات ضد میکروبی اسانس رزماری که در مصارف غذایی و آرایشی و بهداشتی نیز مورد استفاده قرار می گیرد، بر روی پنج باکتری مختلف به ویژه باکتری استافیلوکوکوس ارئوس که هم ایجادکننده مسمومیت های غذایی است و هم یکی از باکتری های مهم در ایجاد عفونت ها است مورد ارزیابی قرار گرفت. به این صورت که اسانس رزماری در رقت های زیاد بر رشد انتروکوکوس فکالیس، استافیلوکوکوس اپیدرمیس و اشرشیاکلی اثر مهارکنندگی و کشندگی داشت که نشان دهنده اثر آنتی باکتریال قوی این اسانس بر روی این باکتری ها می باشد. همین طور اسانس رزماری بر استافیلوکوکوس اورئوس و پروتئوس میرابیلیس هم اثر باکتریوسیدال و هم باکتریواستاتیک داشت که اعداد نزدیک به هم MBC و MIC نیز نشان دهنده اثر قوی باکتریوسیدال اسانس این گیاه برروی این باکتری ها است. بر اساس نتایج به دست آمده هاله عدم رشد اسانس رزماری بر روی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس ۱۵ میلی متر بود و میزان MIC به دست آمده ۱/۴ بود. در مطالعه ای که یوجی فو در سال ۲۰۰۷ انجام داد، اثرات ضد میکروبی اسانس رزماری را بر روی باکتری های مختلف بررسی کرده و نشان داد که میزان هاله عدم رشد این اسانس بر روی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس برابر با ۱۸ میلی متر و میزان MIC آن ۰/۱۲۵

www.SID.ir

Archive of SID

میلی گرم در میلی لیتر است(۶). در مطالعه دیگر عزیز کمال اثرات ضد میکروبی اسانس رزماری را بر باکتری های گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس وباسیلوس سرئوس نشان داد(۱۹). اثرات ضد میکروبی اسانس رزماری بر روی باکتری ها و قارچ ها نشان دهنده فعالیت ضد میکروبی موثر این اسانس ها می باشد. یوجی فو و همکاران نشان دادند که میزان MIC اسانس رزماری بر روی پروپیونی باکتریوم آکنه برابر با ۰/۵۶ میلی گرم در میلی لیتر می باشد(۲۰). اثرات ضد میکروبی اسانس رزمای بر اساس مکان برداشت و فصل جمع آوری قابل تغییر است. اثرات ضد میکروبی این اسانس بر باکتری های استافیلوکوکوس اورئوس، استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس، پروتئوس ولگاریس، سودوموناس آئروجینوزا، کلبسیلاپنومونیه، انتروکوکوس فکالیس، اشرشیاکلی، کاندیدا آلیبکنس و باسیلوس سوبتیلیس به اثبات رسیده است(۲۱). وجود برخی تفاوت ها در میزان اثرات ضد میکروبی مشاهده شده در این مطالعه و مطالعات مشابه می تواند به دلیل تفاوت مکان های رشدی گیاهان تولیدکننده اسانس ها، استفاده از روش های مختلف برای استخراج و... باشد. تفاوت در اثرات ضد میکروبی نشان دهنده تفاوت های موجود در ترکیبات اسانس ها می باشد(۴).

در حال حاضر یکی از عمده مشکلاتی که در درمان عفونت ها و استفاده از آنتی بیوتیک ها وجود دارد، ایجاد مقاومت های آنتی بیوتیکی است که توجه خاصی را برای درمان می طلبد و از آن جا که اثرات ضد باکتریایی اسانس رزماری در تحقیقات مختلف بر روی گونه های متعددی از باکتری ها به اثبات رسیده است، استفاده از آن در درمان عفونت های ایجاد شده توسط باکتری های مقاوم قابل توصیه می باشد.

References

1.Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M. Biological effects of essential oils-A review .Food Chem Toxicol 2008 ; 46: 446-75.

2.Tiwari RP, SKB, Kaur HD, Dikshit R, Hoondal GS. Synergistic antimicrobial activity of tea & antibiotics. Indian J Med Res 2006 ;122: 180-6.

3.Zargari A. Medicinal Plants. Tehran University Publication1990;P.71-6.

4.Wagnera H, Ulrichmerzenich G. Synergy research approaching a new generation of phytopharmaceuticals. Phytomedicine 2009;16: 97-110.

5.Dermarderosian A. The review of natural products. 1st ed. Missouri Facts and Comparisons Publication2001;P.512-3

6.Krapp K, Long JL. Gale encyclopedia of alternative medicine. London Hills Gale Publication 2001; P.1510 -2.

7.Simon JE, Chadwick AS, Craker LE. Herbs an indexed bibliography of 1971-1980 the scientific literature on selected herbs, and aromatic and medicinal plants of the temperate zone. Archon Books Hampden CT Publication 1984;P.123-5.

8.Defeo V, Senatore F. Medicinal plants and phytotherapy in the Amalfitan coast Salerno province Campania Southern Italy. J Ethnopharm1993;39:39-51.

9.Martinezlirola MJ, Gonzaleztejero MR, Moleromesa J. Ethanobotanical resources in the province of Almeria Spain campos Nijar. Econ Bot1996;50:40-56.

10.Chandler F. Memory stimulat herbal medicine. Can Pharm J1995;28:40-53.

11.Ozcan M. Antioxidant activities of rosemary sage and sumac extracts and their combinations on stability of natural peanut oil. J Med Food 2003;6:267-70.

12.Kosaka K, Yokoi T. Carnosic acid a component of rosemary (Rosmarinus officinalis L.) promotes synthesis of nerve growth factor in T98G human glioblastoma cells. Biol Pharm Bull 2003;26:1620-2.

13.Sotelofelix JI, Martinezfong D, Muriel P, Santillan RL, Castillo D, Yahuaca P. Evaluation of the effectiveness of Rosmarinus officin alis (Lamiaceae) in the alleviation of carbon tetrachloride-induced acute hepatotoxicity in the rat. J Ethnol2002; 81:145-54.

14.Mahon CR, Manoselis G. Textbook of diagostic microbiology. 2nd ed. WB Saunders Company Publication2000;P.62-95.

15.Geoffrey A, Mckay SB, Francis F, Arhin T, Adam K, Belley G. Time-kill kinetics of oritavancin and comparator agents against staphylococcus aureus Enterococcus

www.SID.ir

Archive of SID

faecalis and Enterococcus faecium. J Antimicrob Chemother 2009;63:1191-9.
16.Seydim AC, Sarikus G. Antimicrobial activity of whey protein based edible films incorporated with oregano rosemary and garlic essential oils. Foo Res Inte 2006;39:639-44.
17.Fu Y, Zu Y, Chen LY , Shi XG, Wang Z, Sun S, et al. Antimicrobial activity of clove and rosemary essential oils alone and in combination. Phytother Res 2007;21:989-94.
18.Giorgio S, Pintore MU, Pascale B, Bradesi K, Claudia Y, Juliano N. Chemical composition and antimicrobial activity of Rosmarinus officinalis L. oils from Sardinia and Corsica. Flav Frag J 1997; 17:15 -9.
19.Gislene GF, Nascimento D, Juliana L, Locatelli G, Paulo C, Freitas GL. Antibacterial activity of plant extracts and phytochemical on antimicrobial resistant bacteria. Braz J Mic2007;31:247-56.
20.Matkowski, A. Plant invitro culture for the production of antioxidants a review. Biotechnol Adv 2008;26:548-60.
21.Salehabulafi IO, Hasan K, Dewik T, Mohammed F, Qabajah LO, Hanus E. Thymol and carvacrol production from leaves of wild Palestinian Majorana syriaca. Bioresource Technol2008;99:3914-8.
22.Panahi J, Havasiyan MR, Gheitasi S, Pakzad I, Jaliliyan A, Hoshmandfar R. The invitro inhibitory effects of the aqueous extracts of summer onien on Candida albicans. J Ilam Uni Med Sci 2013;21:54-9.
23.Zamanianazodi M, Ardashirilajimi A, Ahmadi N, Gilanchi S, Abbasi N, Hematian A. The study of antibiotic properties of scrophularia striata aqueous extract on Staphylococcus aureus. J Ilam Uni Med Sci2013; 20 :51-8

www.SID.ir

Archive of SID

The In Vitro Inhibitory Effects of the Rosemary Essential Oil on Some Gram Positive and Negative Bacteria

Ahmadyasbchin S[1], Mostafapor rami M[2], Rajaee maleki S[1]*

(Received: October 29, 2014 Accepted: December 5, 2015)

Abstract

Introduction: The use of medicinal plants to treat infections is an old method, having antimicrobial properties that can be common problems in the use of antibiotics to restore. Thus the aim of this study, anti-bacterial effects of essential oils of rosemary plant was on five different bacteria in vitro. Essential oil samples after drying in the shade plant, using steam distillation and were isolated using distillation.

Materials & methods: An antibacterial effect of this plant by successive dilution and disk diffusion methods was evaluated. In order to control and standardized methods of antibiotic discs and standard bacterial strains were used.

Findings: Based on the results, P. mirabilis and E.fecalis the most sensitive and most resistant bacteria to the dilution ratio of 1, ½ and ¼ were essential but the most sensitive E.fecalis and E.coli bacteria to dilution of 1/8 , 1/16, 1/32 and 1/64 had. The evaluation results o disk diffusion method with antibiotic disks, the effect of the plant compared with Gentamicin disks and streptomycin, showed against five strains of S.aureus ATCC1885, S.epidermidis ATCC2405, E.fecalis QTCC2321, E.coli ATCC1652, and P.mirabilis ATCC 2601.

Discussion & Conclusions: The results of this study show that plant oils can replace for chemical drugs to treat infections. Of course all of this oil should be carefully evaluated in vivo and in vitro.

Keywords: Rosemary, Anti-bacterial effects, Essential oils, Medicinal plants

1.Dept of Molecular and Cell Biology, Faculty of Basic Sciences, Mazandaran University, Babolsar, Iran
2.Dept of Microbiology, Faculty of Science, Ilam University , Ilam ,Iran
**Corresponding author Email: sahmadyas@yahoo.fr*

www.SID.ir