

اثر ضد میکروبی عصاره *Scrophularia striata* بر سویه های اشیریشیاکلی جدا شده از بیماران با عفونت های مجاری ادراری در ایلام

طاهره ولدبیگی^{۱*}، میترا جالاب زردی^۱

(۱) گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران

تاریخ دریافت: ۹۴/۱/۲۵

تاریخ پذیرش: ۹۴/۸/۳

چکیده

مقدمه: مقاومت باکتریایی به آنتی بیوتیک ها یک مشکل جهانی است. بنا بر این کشف عوامل ضدباکتری جدیدتر همیشه ضروری به نظر می رسد. در نتیجه این مشکل، محققین جهت تولید داروهای بهتر علیه سویه های میکروبی مقاوم به دارو، معمولاً روی محصولات طبیعی متمرکز می شوند. هدف از این مطالعه بررسی فعالیت آنتی باکتری *Scrophularia striata* علیه جدایه های اشیریشیاکلی است.

مواد و روش ها: عصاره های اتانولی، آبی جوشیده و آبی سرد به وسیله دستگاه سوکسله تهیه شد. حداقل غلظت مهار کنندگی (MIC) و حداقل غلظت باکتریایی (MBC) عصاره های گیاه در شش غلظت مختلف (۲۵mg/ml، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰، ۸۰۰) با استفاده از روش دیسک دیفیوژن و روش انتشار در آگار تعیین شد. از آنتی بیوتیک های آمیکاسین و جنتامایسین به عنوان کنترل مثبت و از DMSO به عنوان کنترل منفی استفاده گردید.

یافته های پژوهش: نتایج به دست آمده از عصاره آبی سرد این گیاه بر روی سویه های استاندارد و بالینی فاقد اثر ضد میکروبی بود. عصاره الکلی در غلظت ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی گرم و عصاره آبی جوشیده در تمام غلظت ها دارای اثر ضد میکروبی بود. مقدار MIC و MBC به ترتیب ۱۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم به دست آمد.

بحث و نتیجه گیری: عصاره متانولی و آب داغ این گیاه بر رشد باکتری های بیماری زا اثر مهارکنندگی قابل ملاحظه ای دارد. به منظور کاربرد بالینی این عصاره ها انجام تحقیقات بالینی ضروری است.

واژه های کلیدی: گل میمونی، اشیریشیاکلی، ضدباکتری، عفونت مجاری ادراری

*نویسنده مسئول: گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران

Email: tvaladbigi@yahoo.com

مقدمه

استفاده از گیاهان دارویی برای درمان بیماری‌ها قرن‌ها سابقه دارد و امروزه در بسیاری از کشورهای پیشرفته و در حال پیشرفت به عنوان یک راه اصلی درمان به شمار می‌رود. در حال حاضر بخش عمده داروهای مدرن شیمیایی هستند ولی در عین حال تقریباً ۳۰ درصد فرآورده‌های دارویی منشاء گیاهی دارند (۱-۳). گیاه گل سازویی با نام علمی *Scrophularia striata* متعلق به رده *Scrophulariaceae* است. این گیاه با نام محلی تشنه داری گیاهی خودرو و چند ساله و از تیره گل میمون است که در استان ایلام و مناطقی از استان خوزستان رشد می‌کند (۴). سال‌ها است که مردم استان ایلام از این گیاه به صورت تجربی به شکل‌های مختلف از قبیل جوشانده، خوراکی، بخور و ضماد در درمان بیماری‌های متفاوت از جمله عفونت چشم و گوش، سوختگی پوستی و زخم‌های عفونی، درد و اختلالات گوارشی و التهاب (Inflammatory affections) استفاده می‌کنند. هم‌چنین در دیگر قسمت‌های کشور ایران (سیستان و بلوچستان، بوشهر و آبادان) به طور سنتی برای درمان بیماری‌های آلرژی و روماتیسم و التهاب مزمن استفاده می‌شود (۵-۷). در غرب کشور ایران به صورت سنتی و بومی از جوشانده و دم کرده گیاه گل میمونی برای درمان عفونت‌های سطحی و عمقی و داخلی استفاده می‌شود (۸). گونه تشنه داری دارای ترکیبات غنی گلیکوزید ایریوئیدی (iridoid glycosides) به خصوص اکوبین (aucubin) و کتالپول (catalpol) است. این ترکیبات فعالیت‌های مختلف بیولوژیکی مانند اثرات ضد میکروبی، ضد توموری، تحریک و ترشح صفرا، همودینامیک حفاظتی کبد و اثرات ضد التهابی دارند. علاوه بر آن شاخه‌ها حاوی ترکیبات ثانویه دیگری از جمله فنولیک اسیدها، فلاونوئیدها و ساپونین‌ها می‌باشند (۹-۱۱). با توجه به افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی در اثر مصرف فراوان داروهای ضد میکروبی، هم‌چنین عوارض جانبی و اثرات سوء متفاوت آن‌ها، بررسی و تحقیق بر روی گیاهان دارویی به منظور کشف منابع جدید دارویی بر علیه عفونت‌های باکتریایی امری

ضروری به نظر می‌رسد (۱۲،۱۳). گیاهان و ترکیبات آن‌ها دارای توان بالقوه جهت جایگزینی با داروهای شیمیایی هستند. این در حالی است که عوارض جانبی این ترکیبات در مقایسه با داروهای شیمیایی کمتر است (۱۴،۱۵). طبق تحقیقی که توسط بهرامی و همکاران در سال ۲۰۱۰ انجام شد، عصاره اتانولی برگ‌های این گیاه توأم با آنتی‌بیوتیک بر روی رشد باکتری *E. coli* و *Staphylococcus aureus* اثر مهاری دارد. آن‌ها هم‌چنین گزارش کردند که اثر مهاری این گیاه از دو آنتی‌بیوتیک *Doxycycline* و *Ofloxacin* بیشتر است (۱۶). در مطالعه لاجیمی و همکاران با بررسی اثرات ضد میکروبی عصاره گیاه اسکروفولاریا استریاتا بر روی باکتری اشریشیاکلی و استافیلوکوکوس نشان دادند که عصاره این گیاه از رشد باکتری تا حدود ۸۰ درصد نسبت به کنترل جلوگیری کرده و اثر مهاری عصاره در غلظت‌های پایین حتی از آنتی‌بیوتیک تتراسیکلین نیز بیشتر بوده است (۱۷). در یک بررسی دیگر در سال ۲۰۱۲، مشخص شد که عصاره متانولی بخش‌های هوایی و ریشه این گیاه بر روی رشد باکتری‌های *Bacillus cereus*، *E. coli* و *S. aureus* اثر مهاری دارد ولی عصاره کلروفرمی و اتیل استاتی اثر ضد میکروبی بر روی هیچ کدام از باکتری‌های ذکر شده ندارد (۱۸). زمانیان عضدی و همکاران در سال ۲۰۱۳ با بررسی اثر عصاره آبی و دانه این گیاه بر روی استافیلوکوکوس اورئوس نشان دادند که دانه این گیاه اثر آنتی‌بیوتیکی خوبی را روی سلول‌های فیروبلاست مورد آزمایش دارا می‌باشد (۱۹). در مطالعات ایوبی و همکاران با بررسی اثرات ضد باکتری فراکشن‌های آبی، متانولی و کلروفرمی بخش‌های هوایی گیاه *S. striata* نشان داده شد که فراکشن آبی نسبت به فراکشن متانولی اثر ضد باکتری قوی‌تری علیه باکتری سودوموناس آئروژینوزا داشته و عصاره کلروفرمی اثر ضد باکتری بر روی این باکتری نداشته است (۲۰). در مطالعه چالشتی و همکاران با بررسی اثر ضد میکروبی عصاره آبی سرد و اتانولی گیاه تشنه داری بر روی اشریشیاکلی نشان دادند که عصاره آبی سرد اثر مهاری بر روی رشد این باکتری ندارد ولی عصاره متانولی اثر مهاری قابل توجهی بر روی این باکتری

دارد(۲۱). تفاوت مطالعه حاضر با مطالعه چالستری و همکاران در نوع عصاره می باشد. به این صورت که در مطالعه حاضر عصاره آبی سرد و آبی جوشیده تهیه شده است. در صورتی که در مطالعه یاد شده فقط عصاره آبی سرد تهیه و بررسی شده است. مطالعه محمدی و همکاران در سال ۲۰۱۴ با بررسی فعالیت ضدباکتری عصاره الکی گیاه تشنه داری بر روی باکتری اسپنتو بومانی نشان دادند که این عصاره با هاله عدم رشد ۱۴ میلی متری دارای اثر مهاری قابل توجهی است(۲۲). تئیده و همکاران در سال ۲۰۱۵ اثر عصاره تشنه داری بر روی ترمیم زخم های آلوده به پseudomonas aeruginosa روی موش های رت را بررسی نمودند و مشخص کردند که آن ها در مدت زمان کمتری نسبت به گروه کنترل بهبود یافتند(۲۳). هم چنین معبودی و همکاران مشخص کردند که عصاره متانولی گیاه تشنه داری بر روی باکتری های گرم منفی من جمله باکتری سودوموناس آئروژینوزا نسبت به سایر عصاره ها بیشترین تاثیر را دارد(۵). در مقاله ذکر شده باکتری اشیریشیاکلی بررسی نشده است. عباسی و همکاران اثر تشنه داری را روی باکتری های استافیلوکوکوس اورئوس و سودوموناس در محیط آزمایشگاهی بررسی کرده و به اثر ضد باکتریایی آن که معادل بتادین است پی بردند(۲۴).

باکتری اشیریشیاکلی یکی از اعضای مهم خانواده انتروباکتریاسه محسوب می شود. این باکتری شایع ترین علت بعضی از عفونت های شایع باکتریایی مانند عفونت های سیستم ادراری، باکتریمی و اسهال باکتریایی مسافران می باشد. در حالی که مکان اصلی کلونیزاسیون طبیعی انتروباکتریاسه ها در دستگاه گوارش است، شایع ترین محل ایجاد عفونت توسط این باکتری در سیستم ادراری می باشد. با توجه به این که سیستم ادراری به طور طبیعی استریل و فاقد هر گونه باکتری است، ورود باکتری اشیریشیاکلی از طریق مجرای ادرار به قسمت های فوقانی سیستم ادراری غیر طبیعی بوده و موجب عفونت در سیستم ادراری می شود. علاوه بر آن عفونت های ادراری یک مشکل بهداشتی جدی و دومین نوع معمول عفونت در بدن هستند که هر سال میلیون ها نفر از مردم به آن مبتلا

می شوند(۲۵،۲۶). اشیریشیاکلی عامل بسیاری از عفونت های بیمارستانی از قبیل گاستروانتریت، مننژیت نوزادی، سپسیس و عفونت های ادراری شناخته شده است. اشیریشیاکلی شایع ترین باسیل گرم منفی جدا شده از موارد بالینی بوده و هم چنین علت بیش از ۸۰ درصد از موارد عفونت های دستگاه ادراری اکتسابی در جامعه به علاوه عفونت های کسب شده از بیمارستان می باشد(۲۷). در این مطالعه با توجه به روند رو به رشد استفاده از گیاهان دارویی و وجود اکوسیستم بسیار غنی از گیاه تشنه داری در استان ایلام و هم چنین مصرف فراوان این گیاه در استان ایلام، بر آن شدیم تا اثرات ضد میکروبی عصاره آبی جوشیده و الکی گیاه تشنه داری بر روی باکتری اشیریشیاکلی را در شرایط آزمایشگاهی بررسی نماییم.

مواد و روش ها

این تحقیق به روش تجربی انجام گردید. تعیین اثر ضد میکروبی گیاه تشنه داری با سه تکرار گزارش شد. جمع آوری و تهیه عصاره گیاه: در اردیبهشت ۹۳ اندام های هوایی گیاه گل میمونی(تشنه داری) از کوه های اطراف شهر ایلام جمع آوری شد. گیاه جمع آوری شده در سایه خشک و توسط آسیاب پودر گردید. تهیه عصاره آبی سرد: ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر به ۱۰ گرم پودر گیاه اضافه شد. محلول حاصله به مدت ۲۴ ساعت بر روی شیکر قرار گرفت. جهت حذف ذرات از کاغذ صافی و قیف استفاده شد. عصاره حاصله در مجاورت هوا به سرعت خشک شد. پودر خشک حاصله بعد از وزن کردن در آب مقطر حل گردید و به عنوان عصاره آبی سرد مورد استفاده قرار گرفت(۲۸).

تهیه عصاره آبی جوشیده: به ازاء هر گرم پودر ۱۰ میلی لیتر آب مقطر در بشر ریخته شد و پس از جوش آمدن پودر گیاه اضافه و به مدت ۱۵ دقیقه جوشانده شد. عصاره به دست آمده توسط کاغذ صافی به کمک قیف صاف و با کمک دستگاه حذف حلال تا حد امکان تغلیظ گردید(۸).

تهیه عصاره الکی: برای تهیه عصاره الکی گیاه از روش خیساندن استفاده شد. در این روش ۱۰۰ گرم از پودر خشک شده گیاه داخل ظرف شیشه تیره ریخته و به آن ۸۰۰ سی سی اتانل ۸۰ درصد اضافه نموده و بعد

از مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق سانتیفرز و رسوبات جدا گردید. اتانول عصاره به دست آمده با کمک دستگاه حذف حلال در خلاء در دمای ۵۰ درجه سانتی گراد حذف شد و عصاره غلیظ شده برای خشک شدن به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۵۰ درجه سانتی گراد قرار گرفت و پس از خشک شدن کامل به عنوان عصاره الکلی استفاده شد (۲۸).

سویه های میکروبی مورد مطالعه: در این تحقیق از سویه های استاندارد و بالینی اشریشیاکلی استفاده شد. سویه استاندارد اشریشیاکلی (ATCC 25922) از مرکز کلکسیون قارچ و باکتری های صنعتی (تهران-ایران) تهیه شد. تعداد ۱۰۰ سویه اشریشیاکلی جدا شده از عفونت های ادراری (از بیمارستان های امام خمینی و مصطفی خمینی و ۵ آزمایشگاه طبی در سطح شهر ایلام) تهیه شد. سویه های بالینی مجدد توسط آزمایش های بیوشیمیایی تعیین هویت نهایی شدند.

بررسی فعالیت ضد میکروبی: جهت بررسی اثر ضد میکروبی از روش انتشار در آگار و دیسک دیفیوژن استفاده شد. باکتری ها بر روی محیط مولر هینتون آگار به مدت ۲۴ ساعت کشت داده شدند. سوسپانسیونی با رقت ۰/۵ مک فارلند در محیط مولر هینتون برات تهیه شد. سپس یک میلی لیتر از سوسپانسیون باکتری اشریشیاکلی خالص به صورت چمنی در سطح پلیت حاوی محیط کشت مولر هینتون آگار کشت و سپس دیسک های بلانک بر روی سطح پلیت آلوده به باکتری قرار داده شد. مقدار ۲۰ میکرولیتر از عصاره های رقیق شده با غلظت های مختلف روی دیسک ها ریخته شد. قطر هاله ممانعت از رشد بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد اندازه گیری شد. رقیق سازی عصاره ها با استفاده از دی متیل سولفوکساید (DMSO) ۱۰ درصد انجام گرفت. در این مطالعه از غلظت های ۲۵-۵۰-۱۰۰-۲۰۰-۴۰۰-۸۰۰ میلی گرم عصاره آبی سرد و آبی جوشیده و الکلی استفاده شد. آنتی بیوتیک آمیکاسین و جنتامایسین به عنوان کنترل مثبت استفاده گردید. آزمایش سه بار تکرار شد (۲۹). روش انتشار در آگار دو چاهک در محیط مولر هینتون آگار به قطر ۷ میلی لیتر ایجاد شد. از سوسپانسیون باکتریایی معادل ۰/۵ مک فارلند بر روی

محیط کشت داده شد. در یکی از چاهک ها آنتی بیوتیک های شاهد و در چاهک دیگر عصاره های گیاهی با غلظت های ۲۵mg/ml-۵۰-۱۰۰-۲۰۰-۴۰۰-۸۰۰ ریخته شد. سپس پلیت ها به مدت ۲۴ ساعت در انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد قرار داده شد. نتایج بر اساس اندازه گیری قطر هاله های عدم رشد توسط آنتی بیوتیک و عصاره گیاهی ثبت شد. آزمایش سه بار تکرار گردید (۳۰). برای تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی رشد باکتری (MIC) و حداقل غلظت کشندگی باکتری (MBC) از روش رقت لوله ای (Micro dilution method) استفاده گردید. بدین صورت که سوسپانسیونی با غلظت معادل لوله ۰/۵ مک فارلند از باکتری در محیط Trypticase Soy Broth (TSB) تهیه شد. عصاره آبی سرد و آبی جوشیده و الکلی با ۶ رقت (۱/۲، ۱/۴، ۱/۸، ۱/۱۶، ۱/۳۲، ۱/۶۴) تهیه و به میکروپلیت های (میکروچاهک های ۹۶ خانه ای) حاوی سوسپانسیون ۰/۵ مک فارلند باکتری در محیط TSB اضافه شد. چند تا از میکروپلیت ها به عنوان کنترل مثبت و محیط کشت و باکتری بدون عصاره گیاهی به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. سپس این میکروپلیت ها به مدت ۱۰ دقیقه شیک و به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد قرار گرفتند و بعد از مدت زمان مذکور با مشاهده کدورت حاصل در میکروپلیت ها و با توجه به تغییرات کدورت محیط حاوی باکتری و مقایسه با شاهد مقدار MIC تعیین شد. اولین میکروپلیتی که در آن هیچ رشد میکروبی مشاهده نشد به عنوان MIC در نظر گرفته شد. تمام میکروپلیت ها بدون کدورت بر روی محیط کشت مولر هینتون آگار کشت داده شد و بعد از مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور اولین رقتی که در آن هیچ رشد باکتری مشاهده نشد به عنوان MBC تعیین گردید (۲۹).

یافته های پژوهش

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که اثر ضد میکروبی عصاره الکلی و آبی جوشیده گیاه تشنه داری وابسته به غلظت بوده و همراه با افزایش غلظت عصاره، قطر هاله عدم رشد باکتری نیز افزایش می یابد. بر اساس هاله عدم رشد در اطراف دیسک و تعیین

مقایسه با تاثیر عصاره ها با آنتی بیوتیک هایی که استفاد شد غلظت پایین ۵۰ میلی گرم و ۲۵ میلی گرم عصاره آبی جوشیده به ترتیب مشابه آنتی بیوتیک جنتامایسین و آمیکاسین بود (جدول شماره ۱).

در عصاره های الکلی و آبی جوشیده، سویه های بالینی و استاندارد از نظر MIC و MBC تفاوت چندانی با هم نداشتند (جدول شماره ۳). با توجه به نتایج حاصل از میانگین قطر هاله عدم رشد رقت های مختلف عصاره آبی جوشیده نشان داده شد که با افزایش رقت ها در چاهک هاله عدم رشد افزایش یافته و به طوری که سویه های بالینی کمی نسبت به سویه های استاندارد حساس تر بودند (جدول شماره ۴).

MIC و MBC به روش سریال رقتی در هیچ کدام از عصاره های آبی سرد بر علیه باکتری بالینی و استاندارد اثر ضدباکتری مشاهده نگردید و میانگین قطر هاله عدم رشد اطراف دیسک عصاره الکلی در غلظت های ۸۰۰ میلی گرم و ۴۰۰ میلی گرم به ترتیب دارای اثر مهارتی ۱۹±۰/۷ میلی متر و ۱۷±۰/۷ میلی متر بود (جدول شماره ۲). عصاره آبی جوشیده در تمام رقت ها باعث کاهش رشد در باکتری بالینی و استاندارد شد و در غلظت های ۸۰۰، ۴۰۰، ۲۰۰، ۱۰۰، ۵۰ و ۲۵ میلی گرم به ترتیب دارای اثر مهارتی ۲۷±۰/۹ میلی متر، ۲۴±۰/۹ میلی متر، ۲۱±۰/۹ میلی متر، ۱۵±۰/۹ میلی متر، ۱۱±۰/۹ میلی متر بود.

جدول شماره ۱. مقایسه میانگین قطر هاله عدم رشد باکتری اشیریشیاکلی (قطر هاله دیسک های حاوی عصاره) در محیط کشت حاوی عصاره آبی جوشیده در غلظت های مختلف و مقایسه با آنتی بیوتیک (آمیکاسین و جنتامایسین)

بر اساس میلی گرم بر میلی لیتر. IM: نیمه حساس و R: مقاوم

سویه های میکروبی	۸۰۰	۴۰۰	۲۰۰	۱۰۰	۵۰	۲۵	آمیکاسین	جنتامایسین
اشیریشاکلی بالینی	۰/۹±۲۷	۰/۹±۲۴	۰/۹±۲۱	۰/۹±۱۵	۰/۹±۱۵	۰/۹±۱۳	R ۰/۹±۱۲	IM ۰/۹±۱۴
اشیریشاکلی استاندارد	۰/۲۹±۲۸	۰/۹±۲۲	۰/۹±۲۱	۰/۹±۱۶	۰/۹±۱۴	۰/۹±۱۲	R ۰/۹±۱۲	IM ۰/۹±۱۳

جدول شماره ۲. مقایسه میانگین قطر هاله عدم رشد باکتری اشیریشیاکلی در محیط کشت حاوی عصاره الکلی در غلظت های ۸۰۰ mg/ml و ۴۰۰ mg/ml و مقایسه با آنتی بیوتیک (آمیکاسین و جنتامایسین). IM: نیمه حساس و R: مقاوم

سویه های میکروبی	۸۰۰	۴۰۰	آمیکاسین	جنتامایسین
اشیریشاکلی بالینی	۷±۱۹	۰/۷±۱۷	R ۰/۹±۱۲	IM ۰/۹±۱۴
اشیریشاکلی استاندارد	۷±۱۹	۷±۱۵	R ۰/۹±۱۲	IM ۰/۹±۱۳

جدول شماره ۳. حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) عصاره الکلی

و آبی جوشیده عصاره گل میمونی

سویه های میکروبی	MIC عصاره آبی جوشیده	MBC عصاره آبی جوشیده	MIC عصاره الکلی	MBC عصاره الکلی
اشیریشاکلی بالینی	۱۰۰	۴۰۰	۲۰۰	۸۰۰
اشیریشاکلی استاندارد	۱۰۰	۴۰۰	۲۰۰	۸۰۰

جدول شماره ۴. میانگین قطر هاله عدم رشد باکتری اشیریشیاکلی در محیط کشت حاوی عصاره آبی

جوشیده در غلظت های مختلف بر اساس میلی گرم بر میلی لیتر

سویه های میکروبی	۸۰۰	۴۰۰	۲۰۰	۱۰۰	۵۰	۲۵	آمیکاسین	جنتامایسین
اشیریشاکلی بالینی	۲۵	۲۱	۱۸	۱۵	۱۳	۱۲	R ۱۴	IM ۱۳
اشیریشاکلی استاندارد	۲۴	۲۰	۱۸	۱۴	۱۱	۱۱	R ۱۲	IM ۱۴

بحث و نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج این تحقیق عصاره الکلی و آبی جوشیده دارای اثرات ضدباکتریایی قابل توجهی هستند. هم چنین عصاره آبی سرد اثر ضد میکروبی نداشته و عصاره الکلی در غلظت های ۸۰۰ و ۴۰۰ دارای اثر ضد میکروبی است اما این عصاره در غلظت های کم اثر ضد میکروبی ندارد. به طور کلی عصاره آبی جوشیده دارای بیشترین خواص ضد میکروبی می باشد. در درمان عفونت ادراری برای شروع تجویز یک آنتی بیوتیک مناسب آشنایی به انواع ارگانسیم های شایع عامل عفونت ادراری و الگوی حساسیت آن ها نسبت به آنتی بیوتیک ها ضروری است. باکتری اشریشیاکلی یک باسیل گرم منفی بوده و عامل اصلی و شایع عفونت ادراری در کلیه سنین محسوب می شود. به عبارت دیگر این باکتری به عنوان مهم ترین عامل (۹۰-۷۵ درصد) در عفونت های ادراری نقش دارد (۳۱). در مطالعه وایت در سال ۲۰۰۷ اثرات ضد میکروبی عصاره گیاه *Peperomia tetraphylla* بر روی اشریشیاکلی و استافیلوکوکوس اورئوس و کاندیدا آلبیکنس بررسی شده است و استفاده از این گیاه در درمان التهاب مثانه و عفونت های جلدی حاصل از باکتری های فوق پیشنهاد گردیده است (۳۲). در تحقیقی که توسط عباسی و همکاران در سال ۸۶ تحت عنوان اثر ضد میکروبی عصاره گیاه *Scrophularia striata* روی باکتری های استافیلوکوکوس اورئوس و سودوموناس آئروژینوزا انجام شده است عصاره آبی به دست آمده از این گیاه به عنوان فرآورده آنتی سبتیک در درمان عفونت های خارجی حاصل از این دو میکروارگانسیم پیشنهاد شده است (۸). هم چنین در مطالعه ای که توسط شرافتی چالشتی در سال ۱۳۸۷ به منظور بررسی اثر ضد میکروبی عصاره آبی سرد و اتانولی گیاه گل میمونی بر اشریشیاکلی انجام شد عصاره آبی سرد این گیاه فاقد اثر مهاری بر اشریشیاکلی می باشد که با مطالعه حاضر هم خوانی دارد (مطالعه حاضر نشان می دهد که عصاره باید جوشیده باشد تا ترکیبات ضد باکتری استخراج شوند). نتایج MIC و MBC عصاره اتانولی این گیاه به ترتیب ۹۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر ذکر شده است (۲۱). در مطالعه ای شوهانی و

همکاران در سال ۱۳۸۸ اثر التیام بخشی عصاره هیدروالکلی گیاه تشنه داری بر روی زخم باز پوستی خرگوش بررسی شده است (۷) و مطالعه دیگر توسط بهمنی در سال ۱۳۸۹ به منظور بررسی مقایسه اثر گیاه گل میمونی با آمفوتریسین B بر روی کاندیدا آلبیکنس انجام شده، حداقل غلظت ممانعت از رشد سری اول و دوم عصاره اتانولی گل میمونی ۵۹ درصد و ۵۸ درصد و برای آمفوتریسین B به میزان ۵۹ درصد مشخص شد (۳۳). در یک بررسی توسط شرافتی چالشتی در سال ۱۳۸۸ که به منظور بررسی اثر ضد میکروبی و تعیین میزان ترکیبات فنولی، فلاونوئیدی و فلاونولی عصاره اتانولی گل میمونی انجام شد مقادیر MIC و MBC به ترتیب برابر با ۹۰ و ۱۰۰ گزارش شد (۳۴). در مطالعه ای که در سال ۸۵ توسط گودرزی تحت عنوان بررسی تاثیر عصاره های آبی و الکلی گیاه آویشن شیرازی بر روی اشریشیاکلی انتروهموراژیک انجام شد عصاره آبی گیاه فاقد اثر ضد میکروبی بوده و عصاره الکلی در غلظت های معینی دارای اثر ضد میکروبی بر باکتری اشریشیاکلی بوده که این مطالعه همسو با مطالعه حاضر است (۳۵). در سال ۱۹۸۷ Lens نشان داد که اسانس های آویشن و دارچین دارای فعالیت ضدباکتریایی قابل توجهی هستند (۳۶). هم چنین معبودی و همکاران در سال ۲۰۱۳ با بررسی اثر آنتی باکتری و تعیین مواد آنتی اکسیدانی (فنول و فلاونوئید) عصاره تشنه داری نشان دادند که عصاره متانولی تشنه داری بیشترین تاثیر را بر روی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس و سودوموناس آئروژینوزا دارد (۵). در مقاله ذکر شده خواص ضد باکتری عصاره علیه اشریشیاکلی بررسی نشده است. نخودی و همکاران در سال ۲۰۱۴ با مطالعه خواص ضدانگلی تشنه داری و هم چنین اثر آن بر روی انگل لیثمانیا در شرایط آزمایشگاهی و محیط زنده مشخص کردند که خاصیت ضدانگلی عصاره در غلظت ۰/۲۵ بوده و هم چنین گزارش کردند که این گیاه دارای فعالیت موثر ضد لیثمانیا می باشد (۳۷). در یک مطالعه که در سال ۲۰۱۰ توسط بهرامی انجام شد اثر عصاره متانولی برگ های تشنه داری بر روی استافیلوکوکوس اورئوس بررسی شد. نتایج نشان داد که عصاره اتانولی برگ های این گیاه

شمار باکتری های آن ها نسبت به گروه کنترل خیلی کمتر است (۳۸). با توجه به نتایج این مطالعه عصاره آبی جوشیده گل میمونی دارای خاصیت ضد میکروبی بهتری نسبت به عصاره الکلی می باشد. به نظر می رسد جوشاندن گل میمونی باعث جداسازی بیشتر ترکیبات ضد میکروبی آن گردید است.

توام با آنتی بیوتیک بر روی رشد باکتری ها اثر مہاری قابل ملاحظه ای دارد (۱۶). جبلی جوان و همکاران در سال ۲۰۱۴ با مطالعه اثر عصاره آبی گیاه تشنه داری بر کیفیت عمر مفید ماهی قزل آلا در زمان نگه داری آن نشان دادند که فیله های ماهی هایی که حاوی عصاره آبی تشنه داری بودند دیرتر دچار پراکسیداسیون و فشار هیدرلیکی می شوند و هم چنین نشان دادند که

References

1. Yuan R, Yuan Lin Y. Traditional Chinese medicine an approach to scientific proof and clinical validation. *Pharmther* 2000; 86:191-8.
2. Sindambiwe JB, Calomme M, Cos P, Totte J, Pieters L, Vlietinck A, et al. Screening of seven selected Rwandan medicinal plants for antimicrobial and antiviral activities. *J Ethnopharmacol* 1999; 65: 71-7.
- 3- Sharafzadeh S, Alizadeh O. Some medicinal plants cultivated in Iran. *J Appl Pharm Sci* 2012; 2: 134-7.
4. Mozafarian VA. Khuzastan flora agriculture natural resources research. 1th ed. Ahvaz Uni Publication 1999; P.353-4.
5. Mahboubi M, Kazempour N, Boland Nazar AR. Total phenolic, total flavonoids, antioxidant and antimicrobial activities of *Scrophularia striata* Boiss extracts. *Jundishapur J Nat Pharm Prod* 2013; 8:15-9.
6. Azadmehr A, Hajiaghaee R, Zohal MA, Maliji G. Protective effects of *Scrophularia striata* In Ovalbumin-induced mice asthma model. *DARU J Pharm Sci* 2013;21:56-63.
7. Shoohani B, Hemati AA, Taheri Moghadam M. [Effects of *Scrophularia striata* extract on wound healing in rabbit]. *Ilam Uni Med Sci J* 2010;4:9-16. (Persian)
8. Abbasi N, Azizjalilian F, Abdi M, Saifmanesh M. [A comparative study of the antimicrobial effect of *Scrophularia striata* boiss extract and selective antibiotics against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*]. *J Med Plants* 2007;10-8. (Persian)
9. Park SU, Park N, Kim YK, Suh SY, Eom SH, Lee SY. Application of plant biotechnology in the medicinal plant *Rehmannia glutinosa* Liboschitz. *J Med Plant Res* 2009; 3:1258-63.
10. Recio MC, Giner RM, Manez S, Rios JL. Structural considerations on the iridoids as anti-inflammatory agents. *J Planta Med* 1994; 60: 232-4.
11. Santos Galindez J, Díaz Lanza AM, Fernandez Matellano L. Biologically active substances from the Genus *Scrophularia*. *J Pharm Biol* 2002; 1: 45-9.
12. Shirazi MH, Fazli MR, Sultan Dallal MM, Eshraghi S, Jamalifar H, Alamulhoda E. [A comparative study on the antimicrobial effect of some medicinal herbal extracts and selective antibiotics against the clinical isolates of *Helicobacter pylori*]. *J Med Plants* 2003; 2: 53-60. (Persian)
13. Nariman F, Eftekhari F, Habibi Z, Falsafi T. Anti-*Helicobacter pylori* activities of six Iranian plants. *Helicobacter* 2004; 9: 146-51.
14. Berahou A, Auhmani A, Fdil N, Benharref A, Jana M, Gadhi CA. Antibacterial activity of *Quercus ilex* bark's extracts. *J Ethnopharmacol* 2007; 112: 426-9.
15. Dupont BF, Dromer F, Improvisi L. The problem of resistance to azoles in *Candida*. *J Mycol Med* 1996; 6:12-9.
16. Bahrami AM, Valadi A. Effects of *Scrophularia striata* ethanolic leaves extracts on *Staphylococcus aureus*. *Int J Pharmacol* 2010; 6: 431-4.
17. Lajimi AA, Tavirani- Rezai M, Ahmadi S, Entezari M, Mahdavi M. [Study antimicrobial effects extract of plant *Scrophularia striata*]. *Med Sci J Islamic Azad Uni* 2013;23:190-5. (Persian)
18. Savfavi F, Meighani H, Ebrahimi P, Hafezghoran S. Antioxidant and antibacterial activity of *Scrophularia striat*. *Res Pharm Sci* 2012;7:852-8.
19. Zamanianazodi M, Ardeshirylajimi A, Ahmadi N, Bagher Rezaee M, Azizjalilian

- F, Khodarahmi R. Antibacterial effects of *Scrophularia striata* seed aqueous extract on *Staphylococcus aureus*. *J Param Sci* 2013; 4:58-63.
20. Ayoobi H, Jamalifar H, Mohamadpor F, Godarzi S, Fazeli M, Atar F. [Survey antibacterial effects of plant extract of *Scrophularia striata* Boiss on resistant strains *Pseudomonas aeruginosa*]. *J Med Plant* 2014;13:73-80.(Persian)
21. Sherafatichaleshtari F, Sherafatichaleshtari R, Momeni M. [In vitro antimicrobial effect of *Scrophularia striata* ethanolic and aqueous extract on *Escherichia coli*]. *J Shahrekord Med Uni* 2009;5:32-7.(Persian)
22. Mohamadi J, Havasian M, Panahi J, Pakzad I, Judaki A. Antibacterial effects of alcoholic extract of *Scrophularia striata* on *Acinetobacter baumannii*. *J Biol Chem Res* 2014;31:923-8.
23. Tanideh N, Rokhsari P, Mehrabani D, Mohammadisamani S, Sabetsarvestani F, Ashraf MJ, et al. The healing effect of licorice on *Pseudomonas aeruginosa* infected burn wounds in experimental rat model. *World J Plast Surg* 2014;3:99-106.
24. Abbasi N, Abdi M, Azizjalilian F, Seifmanesh M. [Antimicrobial effect of extracts of *Scrophularia striata* on *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* and comparison with selective effective antibiotics]. *Ilam Uni Med Sci J* 2004;2:26-32.(Persian)
25. Vila J, Saezlopez E, Johnson JR, Romling U, Dobrindt U, Canton R, Giske CG, et al. *Escherichia coli*: an old friend with new tidings. *FEMS Microbiol Rev* 2016; 8:45-52.
26. Mittal R, Aggarwal S, Saroj Sharma S, Sanjay Chhibber S, Harjaib K. Urinary tract infections caused by *Pseudomonas aeruginosa*. *J Infect Public Health* 2009; 2:101-11.
27. Poirel L, Naas T, Guibert M, Labia R, Nordmann P. Molecular and biochemical characterization of VEB-1, a novel class A extended-spectrum β -lactamase encoded by an *Escherichia coli* integron gene. *Antimicrob Agents Chemother* 1999;43:573-81.
28. Havasian M, Panahi J, Pakzad I, Davoudian A, Jalilian A, Zamanian Azodi M. [Study of inhibitory effect of alcoholic and aqueous extract of *Scrophularia striata* (tashne dari) on *Candida albicans* in vitro]. *Pejouhesh* 2013;36:19-23.(Persian)
29. Zarei B, Seyfi T, Movahedi R, Cheraghi J, Ebrahimi S. [Antibacterial effects of plant extract of *Alcea digitata* L. *Saturejabachtiarica* L. and *Ferulago angulata* L.]. *J Babol Uni Med Sci* 2013; 16: 31-7.(Persian)
30. Baron EJ, Finegold SM. Methods for testing antimicrobial effectiveness, Baily & Scotts diagnostic microbiology. 8th ed. New York Mosby Publication 1994;P.171-9.
31. Svanborg C, Godaly G. Bacterial virulence in urinary tract infection. *Infect Dis Clin North Am* 1997;11:513-29.
32. White I, Oshima L, Leswara ND. Antimicrobial activity and micropropagation of *Peperomia tetraphylla*. *Med Biol Sci* 2007; 1:1-7.
33. Bahmani M, Ghorbani M, Momtaz H, Bahmani E, Rafieian M. [The comparison of the in-vitro effects of *Scrophularia deserti* plant and amphotericin B on *Candida albicans*]. *J Arak Med Uni* 2011;13: 15-21. (Persian)
34. Sharafatichaleshtori R, Sharafatichaleshtori F, Sharafatichaleshtori A, Ashrafi K. [Antimicrobial effects and evaluation of total phenols, flavonoids and flavonols contents of ethanolic extracts of *Scrophularia striata*]. *J Shahrekord Uni Med Sci* 2010;1:32-7.(Persian)
35. Guodarzi M, Sattari M, Bigdeli M, Najar Pyrayeh Sh, Goudarzi Gh, Ghaemi A. [Inhibitory effects of alcoholic extracts of thyme on verotoxin production of enterohemorrhagic *Escherichia coli*]. *Iran J Pharm Res* 2004;3:73-4.(Persian)
36. Lens LC. Methods for the evaluation of the antibacterial activity of essential oils. *J Pharm Bel* 1987; 42: 297-302.
37. Jebelli Javan A, Bolandi M, Jadidi Z, Parsaeimehr M, Javaheri Vayeghan A. Effects of *Scrophularia striata* water extract on quality and shelf life of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillets during super chilled storage. *Iran J Vet Res Shiraz Uni* 2015;16:213-7.
38. Nokhodi F, Bandani E, Kooshk H, Eftekhari M, Mahmoudi R, Mansouri M. Medicinal plant *Scrophularia striata* evaluation anti-parasitic effects on *Leishmania major* in vitro and in vivo study. *Biosci Biotech Res Asia* 2014; 11:627-34.



Antimicrobial Effect of *Scrophularia striata* Extract on *Escherichia coli* Strains Isolated from Patients with Urinary Tract Infection in Ilam

Valadbeigi T^{1*}, Chalabzardi M¹

(Received: April 14, 2015)

Accepted: October 25, 2015)

Abstract

Introduction: Bacterial resistance to antibiotics is a global problem. Thus, discovery of newer antibacterial agents is always necessary. As a result of this problem, researchers are usually focusing on natural products to develop better medications against drug-resistant microbial strains. This study aimed to investigate the antibacterial activity of *Scrophularia striata* against standard and clinical isolates of *Escherichia coli*.

Materials & methods: Ethanol, cold water and hot water extracts of *S. striata* were carried out by using Soxhlet apparatus. Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bacterial Concentration (MBC) of plant extracts were determined in six different concentrations (25, 50-100-200-400-800 mg/ml) using disk-diffusion agar method and the dilution method. The antibiotics amikacin and gentamicin as a

positive control and DMSO was used as negative control.

Findings: The results obtained from the cold water extract of this plant have no antimicrobial effect on standard and clinical strains. Ethanol extract at concentrations of 800 and 400 mg/ml and boiling water extract at tall concentrations had antimicrobial effect. Spread on agar disk diffusion method has a significant inhibitory effect on the *E. coli*. MIC and MBC were 100 and 400 mg respectively.

Discussion & Conclusions: Methanol and hot water extracts of this plant inhibited growth of pathogenic bacteria. Clinical applications of these materials needed further investigations.

Keywords: *Scrophularia striata*, *Escherichia coli*, Antibacterial, Urinary tract infection

¹Dept of Biology, Faculty of Science, Ilam University, Ilam, Iran

* Corresponding author Email: tvaladbeigi@yahoo.com