

بررسی اثر ضد باکتریایی عصاره الکلی گیاه شمعدانی *pelargonium sp* بر رشد سه باکتری سودوموناس آئروژینوزا، انتروکوک فکالیس و اشريشیاکلی مقاوم به چند دارو (MDR)

ساناز موریس^۱، امیرحسین مومن^{۱*}، نفیسه یوسفی محمود^۱

(۱) گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، واحد همدان، دانشگاه آزاد اسلامی، همدان، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۲/۲۷

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱۲/۱۴

چکیده

مقدمه: با توجه به مقاومت روزافزون باکتری های بیماری زا نسبت به آنتی بیوتیک ها، پژوهشگران در پی یافتن داروهای جدید گیاهی به عنوان جایگزین داروهای شیمیایی و آنتی بیوتیک ها هستند. گیاهان دارویی از منابع بالقوه ای هستند که از دیرباز خواص درمانی و دارویی آن ها مورد توجه قرار گرفته است. این مطالعه به منظور بررسی اثر عصاره الکلی گیاه شمعدانی عطری بر رشد باکتری های شایع بیمارستانی مقاوم به آنتی بیوتیک ها صورت گرفت.

مواد و روش ها: جهت بررسی فعالیت های ضد میکروبی عصاره الکلی گیاه شمعدانی عطری از دوزهای ۲۵ و ۵۰ میلی گرم بر میلی لیتر بر روی نمونه های بالینی و استاندارد باکتری های سودوموناس آئروژینوزا و اشريشیاکلی و نمونه استاندارد انتروکوک فکالیس به روش دیسک دیفیوژن استفاده شد. هم چنین برای اندازه گیری حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی میکروبراث دایلوژن استفاده گردید.

یافته های پژوهش: حساس ترین باکتری، سودوموناس آئروژینوزا با داشتن بالاترین قطر هاله عدم رشد (۲۴ میلی متر) بود. هم چنین نتایج نشان داد که عصاره الکلی گیاه شمعدانی با غلظت ۵۰ میلی گرم بر میلی لیتر اثر ضد باکتریایی بالاتری دارد.

بحث و نتیجه گیری: مطالعه حاضر نشان داد که عصاره الکلی گیاه شمعدانی عطری دارای خاصیت ضد باکتریایی بوده و با توجه به بومی بودن این گیاه و اثرات درمانی آن، تحقیقات بیشتری در جهت شناسایی ویژگی های درمانی این گیاه توصیه می شود.

واژه های کلیدی: دیسک دیفیوژن، مقاومت دارویی، MIC, MBC, Pelargonium

* نویسنده مسئول: گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، واحد همدان، دانشگاه آزاد اسلامی، همدان، ایران

Email: amomen89@gmail.com

Copyright © 2018 Journal of Ilam University of Medical Science. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution international 4.0 International License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits copy and redistribute the material, in any medium or format, provided the original work is properly cited.

مقدمه

امروزه مسئله مقاومت دارویی و عدم تاثیر آنتی بیوتیک ها با سرعت زیادی در حال پیشرفت است (۱). یکی از مشکلات کنونی درمان عفونت های باکتریایی افزایش مقاومت آن ها به آنتی بیوتیک ها می باشد (۲). باکتری های مقاوم به آنتی بیوتیک می توانند سبب مرگ و میر قابل توجهی در مقایسه با باکتری های غیرمقاوم شوند (۳،۲). از باکتری های گرم منفی مقاوم به آنتی بیوتیک که ایجاد عفونت های بیمارستانی (Infections Nosocomial) می کنند می توان به گونه های اشیریشیاکلی، انتروباکتریاسه، سودوموناس، اسپیتوباکتر اشاره کرد (۴). هم چنین از باکتری های گرم مثبت می توان به گونه های استافیلوکوک، استرپتوکوک و انتروکوک اشاره نمود (۵،۴). با افزایش روز افزون مقاومت باکتری ها به آنتی بیوتیک ها، تلاش جهت جایگزین کردن درمان های جدید در سراسر جهان در حال انجام می باشد (۶).

گیاهان دارویی از منابع بالقوه ای هستند که از دیرباز خواص درمانی و دارویی آن ها مورد توجه قرار گرفته است (۷-۹). گیاهان می توانند به عنوان یک جانشین مناسب داروهای شیمیایی در نظر گرفته شوند چون ممکن است دارای عوارض جانبی کمتری باشند (۱۰). امروزه تحقیق و گسترش دامنه داروهای جدید از منابع طبیعی به عنوان یک راه سیستماتیک و دارای ارزش استراتژیک و اقتصادی در سطح جهان اهمیت خاصی پیدا کرده است (۱۱). ترکیبات ضد میکروبی با منبع گیاهی دارای قابلیت درمانی بی شماری هستند. آن ها نه تنها در درمان بیماری های عفونی موثرند، بلکه به طور هم زمان تعداد زیادی از اثرات جانبی را که اغلب با ترکیبات ضد میکروبی همراه هستند کاهش می دهد (۱۲). گیاهان دارویی و مشتقات آن ها امروزه ۲۰ درصد تجویزات دارویی در کشورهای صنعتی پیشرفته و ۸۰ درصد از کشورهای در حال توسعه را به خود اختصاص داده است. از آن جایی که گیاهان مفید دارویی در کشور ما فراوان می رویند، بررسی اثرات ضد میکروبی آن ها

می تواند گامی مثبت در شناسایی و استفاده بهینه از این ثروت ملی و با ارزش باشد (۱۱).

شمعدانی عطری (Pelargonium) گیاهی معطر و همیشگی و گل دار متعلق به خانواده شمعدانیان در راسته شمعدانی سانان است که شامل ۲۳۰ جنس و بیش از ۲۵۰۰ گونه می باشد. فعالیت ضد میکروبی عصاره گیاه شمعدانی علیه چند باکتری از جمله انتروکوک فکالیس، سودوموناس آئروژینوزا و استافیلوکوک اپیدرمیس گزارش شده است (۱۳). جنس پلارگونوم گروه وسیعی از گیاهان با زیستگاه ها و عادات متنوع است. این گروه عضو خانواده ی ژرانیاسه (Geraniasea) و شامل گونه ها و زیر گونه های بسیار زیادی است که اغلب آن ها بومی جنوب آفریقا می باشد. گزارش خواص ضد میکروبی این دسته از گیاهان احتمالاً به دلیل حضور موادی به نام مونوترپن در ترکیبات شیمیایی موجود در برگ های این گیاهان می باشد (۱۷-۱۴). مطالعه حاضر به منظور بررسی عصاره گیاه شمعدانی پلارگونوم بر روی رشد سه باکتری سودوموناس آئروژینوزا، انتروکوک فکالیس و اشیریشیاکلی مقاوم به چند دارو که مقاومت آنتی بیوتیکی آن ها مشکلات عمده ای در درمان آن ها ایجاد کرده است، می باشد.

مواد و روش ها

در این تحقیق ۱۴ نمونه بالینی باکتری سودوموناس آئروژینوزا و ۲۰ نمونه بالینی باکتری اشیریشیاکلی مورد استفاده قرار گرفت. جمع آوری نمونه های بالینی سودوموناس آئروژینوزا از بیماران سوختگی بیمارستان بعثت و نمونه های بالینی اشیریشیاکلی از بیماران مشکوک به بیماری عفونت ادراری بیمارستان سینا شهر همدان انجام شد. هم چنین سویه های استاندارد باکتری انتروکوک فکالیس PTCC1774 و PTCC1778، اشیریشیاکلی PTCC1396 و سودوموناس آئروژینوزا PTCC1310 از مرکز کلکسیون میکروارگانیسم های صنعتی ایران به صورت لیوفیلیزه تهیه شد. جهت اطمینان از نوع سویه های باکتریایی بالینی و استاندارد جمع آوری شده، تست های تشخیصی افتراقی بر روی آن ها

صورت گرفت. این تست ها شامل تست های سیمون سیترا، Triple sugar iron agar، Sulfide، Indole motility، Methylred-Vegesproskare، broth، کاتالاز و اکسیداز بود.

جمع آوری گیاه و تهیه عصاره: برگ های گیاه شمعدانی Pleargonium SP جمع آوری و به طور کامل از ساقه های آن جدا گردید و با آب مقطر شسته شد. برگ های گیاه در سایه و به دور از نور مستقیم آفتاب و در دمای اتاق به طور کامل خشک گردید. جهت سهولت عصاره گیری، برگ ها توسط دستگاه آسیاب برقی پودر گردیدند. عصاره گیری به روش ماسراسیون (خیساندن) صورت گرفت و برای تهیه عصاره، مقدار ۱۰۰ گرم از پودر گیاه خشک شده وزن و در داخل یک بشر استریل ریخته و میزان ۵۰۰ میلی لیتر اتانول ۹۸ درصد (مرک آلمان) و آب مقطر به آن اضافه گردید. درب بشرها به طور کامل با پارافیلیم بسته و اجازه داده شد مخلوط گیاه و حلال به مدت ۳-۴ روز درون انکوباتور شیکر دار در دمای ۴۰ قرار داده شدند. سپس عصاره های به دست آمده با استفاده از کاغذ صافی واتمن شماره یک صاف و با استفاده از روتاری حلال اضافه آن ها جدا گردید و مایع باقی مانده که حاوی عصاره صاف شده بود درون پلیت های شیشه ای استریل ریخته و در آون با دمای ۴۵ درجه سانتی گراد قرار گرفت تا کامل خشک شود. عصاره های خشک شده جمع آوری و تا زمان انجام آزمایش در یخچال و دور از نور نگهداری گردید (۱۸،۱۹).

جهت رقیق سازی عصاره گیاه از آب مقطر استریل استفاده گردید و رقت های ۲۵ mg/ml و ۵۰ mg/ml از عصاره تهیه و به وسیله فیلتر میلی پور ۰/۲۲ میکرون استریل گردید. دیسک های بلانک استریل به مدت چند ساعت درون غلظت های ۲۵ mg/ml و ۵۰ mg/ml غوطه ور شده و سپس به طور کامل خشک شدند.

از نمونه های بالینی و استاندارد هر سه باکتری سودوموناس آئروژینوزا، انتروکوک فکالیس و اشریشیاکلی، سوسپانسیون تهیه شد و سه بار با زاویه ۶۰ درجه در محیط کشت مولر هینتون آگار، کشت

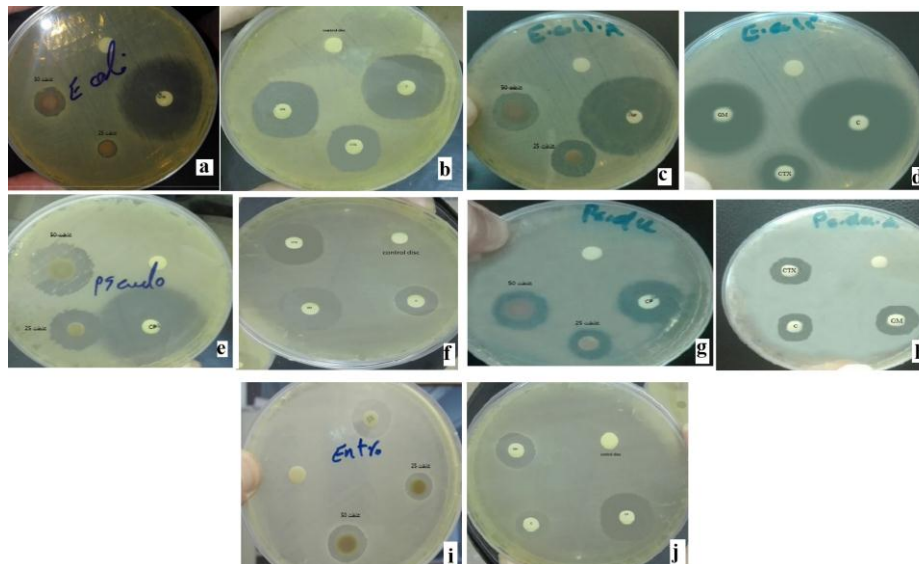
چمنی داده شدند. در هر یک از پلیت های کشت داده شده یک دیسک آغشته به حلال آب مقطر به عنوان کنترل منفی، دیسک های آغشته به عصاره گیاه شمعدانی با دوز ۲۵ mg/ml و دوز با ۵۰ mg/ml قرار داده شدند. هم چنین برای باکتری سودوموناس آئروژینوزا و اشریشیاکلی از دیسک آنتی بیوتیک سیپروفلوکساسین، کلرامفنیکل، جنتامایسین و سفوتاکسیم و برای باکتری انتروکوک فکالیس از دیسک آنتی بیوتیک کلرامفنیکل، سیپروفلوکساسین، جنتامایسین و ونکومایسین به عنوان کنترل مثبت استفاده گردید (۲۰). پلیت ها مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه شدند. بعد از ۲۴ ساعت پلیت ها از لحاظ تشکیل هاله عدم رشد مورد بررسی قرار گرفته و قطر هاله های تشکیل شده با خط کش اندازه گیری شد و بر حسب میلی متر گزارش شد (۲۱).

تعیین حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC): این آزمایش در پلیت ۹۶ خانه ای استریل و به روش میکروپرات دایلوشن انجام شد. ابتدا ۱۰۰ میکرولیتر محیط کشت مولر هینتون برات داخل خانه های پلیت ریخته شد. سپس رقت های تهیه شده از عصاره گیاه را داخل هر خانه پلیت ریخته و ۲۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتریایی معادل نیم مک فارلند به هر یک اضافه گشت. بعد از قرار دادن پلیت ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد پلیت ها مشاهده و وجود عدم کدورت آن ها یادداشت شد. اولین چاهکی که از رشد باکتری پس از قرار دادن در انکوباتور جلوگیری کرد به عنوان MIC در نظر گرفته شد. برای تعیین MBC از خانه فاقد کدورت به طور جداگانه در محیط مولر هینتون آگار کشت داده شد و به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور دمای ۳۷ درجه سانتی گراد قرار گرفت. کمترین غلظتی از عصاره گیاه که باکتری در آن رشد نکرده بود، به عنوان MBC گزارش شد (۲۲).

یافته های پژوهش

در این مطالعه از نمونه های استاندارد و نیز بالینی اشریشیاکلی و سودوموناس آئروژینوزا جهت ارزیابی قطر هاله عدم رشد، حساسیت آنتی بیوتیکی نسبت به آنتی بیوتیک های مورد استفاده و نیز غلظت های

مختلف عصاره الکلی گیاه شمعدانی استفاده گردید. نمونه انتروکوک فکالیس مورد استفاده در این مطالعه، تنها از نوع استاندارد بود. تصاویر مربوط به آنتی بیوگرام (شکل شماره ۱).



شکل شماره ۱. تاثیر عصاره الکلی گیاه شمعدانی با غلظت های ۲۵ و ۵۰ میلی گرم بر میلی لیتر (a, c) و آنتی بیوتیک های کلرامفنیکل، جنتامایسین و سفوتاکسیم (b, d) به ترتیب بر نمونه استاندارد و بالینی باکتری اشیریشیاکلی. تاثیر عصاره الکلی گیاه شمعدانی با غلظت های ۲۵ و ۵۰ میلی گرم بر میلی لیتر (e, g) و آنتی بیوتیک های کلرامفنیکل، جنتامایسین و سفوتاکسیم (f, h) بر نمونه استاندارد و بالینی باکتری سودوموناس آئروژینوزا. تاثیر عصاره الکلی گیاه شمعدانی با غلظت های ۲۵ و ۵۰ میلی گرم بر میلی لیتر و آنتی بیوتیک ونکومایسین (i) و آنتی بیوتیک های کلرامفنیکل، سیپروفلوکساسین، جنتامایسین و ونکومایسین (j) بر نمونه استاندارد انتروکوک فکالیس. Cp = سیپروفلوکساسین، CTX = سفوتاکسیم، GM = آنتی بیوتیک جنتامایسین، C = کلرامفنیکل، VA = ونکومایسین

فکالیس (۱۸ میلی متر) و سودوموناس آئروژینوزا (۳۹ میلی متر) مربوط به آنتی بیوتیک سیپروفلوکساسین است (جدول شماره ۱).

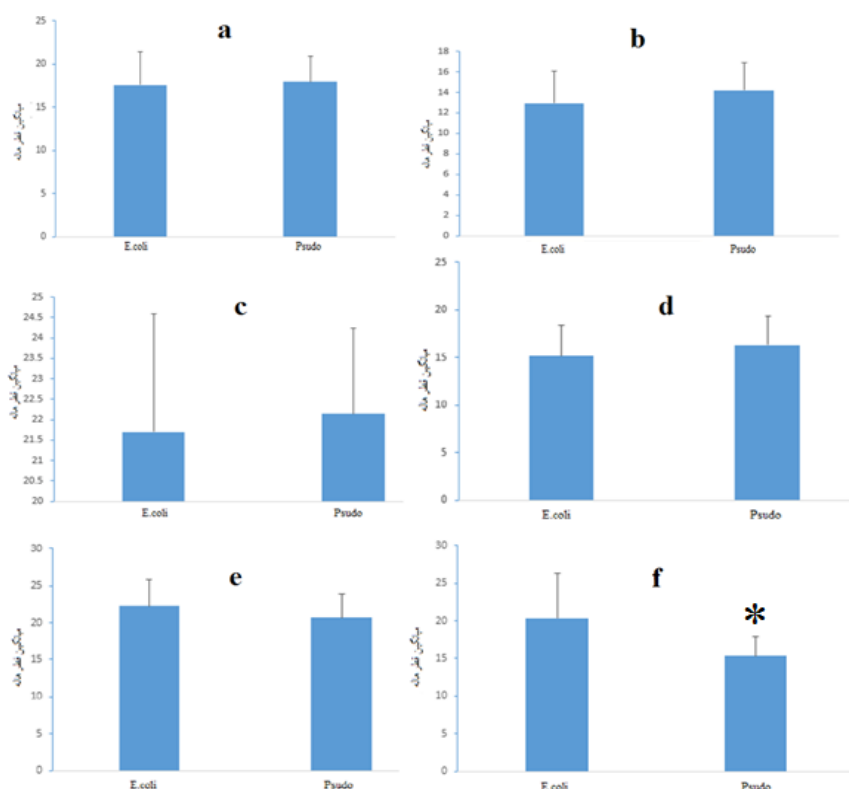
نتایج مربوط به قطر هاله عدم رشد نمونه های استاندارد: بر اساس نتایج نشان داده شده در جدول بیشترین قطر هاله عدم رشد برای نمونه های استاندارد اشیریشیاکلی (۳۰ میلی متر)، انتروکوک

جدول شماره ۱. قطر هاله عدم رشد (بر حسب میلی متر) ناشی از تیمار با غلظت های مختلف عصاره الکلی گیاه شمعدانی و آنتی بیوتیک های مورد استفاده بر حسب نوع باکتری استاندارد کشت داده شده

| نوع تیمار | گونه باکتری | اشیریشیاکلی | انتروکوک فکالیس | سودوموناس آئروژینوزا |
|---------------------|-------------|-------------|-----------------|----------------------|
| عصاره الکلی ۵۰mg/ml | ۱۸ | ۱۶ | ۲۴ | |
| عصاره الکلی ۲۵mg/ml | ۱۴ | ۱۱ | ۱۹ | |
| ونکومایسین | - | ۱۶ | - | |
| کلرامفنیکل | ۳۳ | ۱۰ | ۱۳ | |
| سیپروفلوکساسین | ۳۰ | ۱۸ | ۳۹ | |
| جنتامایسین | ۲۰ | ۱۲ | ۲۰ | |
| سفوتاکسیم | ۱۴ | - | ۱۹ | |

شماره ۱ نشان داده شده است. بر اساس نتایج نشان داده شده در نمودار مذکور، نمونه های بالینی اشریشیاکلی و سودوموناس آئروژینوزا، تنها در شرایطی که از آنتی بیوتیک کلرامفنیکل استفاده شد، از نظر آماری تفاوت معناداری را نشان داد (نمودار شماره ۱).

نتایج مربوط به قطر هاله عدم رشد نمونه های بالینی: نتایج مربوط به مقایسه قطر هاله عدم رشد در بین نمونه های بالینی اشریشیاکلی و سودوموناس آئروژینوزا تحت تاثیر تیمار با عصاره های الکلی گیاه شمعدانی و آنتی بیوتیک های مورد استفاده، در نمودار



نمودار شماره ۱. مقایسه قطر هاله عدم رشد (برحسب میلی متر) ناشی از تیمار با عصاره الکلی گیاه شمعدانی (۵۰ mg/ml) (a)، عصاره الکلی گیاه شمعدانی (۲۵ mg/ml) (b)، آنتی بیوتیک سیپروفلوکساسین (CP) (c)، آنتی بیوتیک جنتامایسین (GM) (d)، آنتی بیوتیک سفوتاکسیم (CTX) (e) و آنتی بیوتیک کلرامفنیکل (C) (f) بین نمونه های بالینی سودوموناس آئروژینوزا و اشریشیاکلی * (P=0.003)

به آنتی بیوتیک های سیپروفلوکساسین و جنتامایسین است. در حالی که در نمونه های بالینی اشریشیاکلی، بیشترین حساسیت مربوط به سیپروفلوکساسین است. اطلاعات مربوط به سایر آنتی بیوتیک ها و هم چنین دوزهای مربوط به عصاره گیاهی در جداول مذکور قابل مشاهده است.

نتایج تست آنتی بیوگرام نمونه های بالینی: نتایج تست آنتی بیوگرام نمونه های بالینی سودوموناس آئروژینوزا و اشریشیاکلی، به ترتیب در جدول های شماره ۲ و ۳ نشان داده شده است بر اساس نتایج نشان داده شده در جدول مربوط به نمونه های سودوموناس آئروژینوزا بیشترین حساسیت مربوط

جدول شماره ۲. نتایج تست آنتی بیوگرام نمونه های بالینی سودوموناس آئروژینوزا

| مقاوم | نیمة حساس | حساس | تیمار |
|---------------|---------------|---------------|------------------|
| فراوانی(درصد) | فراوانی(درصد) | فراوانی(درصد) | گونه باکتری |
| ۴ (۲۸/۶) | ۶ (۴۲/۹) | ۴ (۲۸/۶) | عصاره (۵۰-mg/ml) |
| ۸ (۵۷/۱) | ۶ (۴۲/۹) | ۰ (۰) | عصاره (۲۵mg/ml) |
| ۱ (۷/۱) | ۴ (۲۸/۶) | ۹ (۶۴/۳) | سیپروفلوکساسین |
| ۱ (۷/۱) | ۴ (۲۸/۶) | ۹ (۶۴/۳) | جنتامایسین |
| ۹ (۶۴/۳) | ۴ (۲۸/۶) | ۱ (۷/۱) | سفوتاکسیم |
| ۳ (۲۱/۴) | ۷ (۵۰) | | کلرامفنیکل |

جدول شماره ۳. نتایج تست آنتی بیوگرام نمونه های بالینی اشیشیاکلی

| مقاوم | نیمة حساس | حساس | تیمار |
|---------------|---------------|---------------|------------------|
| فراوانی(درصد) | فراوانی(درصد) | فراوانی(درصد) | گونه باکتری |
| ۷ (۳۵) | ۱۱ (۵۵) | ۲ (۱۰) | عصاره (۵۰-mg/ml) |
| ۱۸ (۹۰) | ۱ (۵) | ۱ (۵) | عصاره (۲۵mg/ml) |
| - | ۸ (۴۰) | ۱۲ (۶۰) | سیپروفلوکساسین |
| ۴ (۲۰) | ۸ (۴۰) | ۸ (۴۰) | جنتامایسین |
| ۸ (۴۰) | ۸ (۴۰) | ۴ (۲۰) | سفوتاکسیم |
| ۲ (۱۰) | ۷ (۳۵) | ۱۱ (۵۵) | کلرامفنیکل |

میلی لیتر و برای نمونه استاندارد انتروکوک فکالیس در غلظت ۳ میلی گرم بر میلی لیتر و کمترین حساسیت را باکتری اشیشیاکلی بالینی در غلظت ۱۰/۵ میلی گرم بر میلی لیتر و باکتری اشیشیاکلی استاندارد در غلظت ۱۲/۵ میلی گرم بر میلی لیتر از خود نشان دادند(جدول شماره ۴).

محاسبه مقادیر حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) نمونه های بالینی و استاندارد تحت تیمار با غلظت های مختلف عصاره الکلی گیاه شمعدانی: بیشترین حساسیت برای نمونه های استاندارد سودوموناس آئروژینوزا در غلظت ۱/۵ میلی گرم بر میلی لیتر، برای نمونه های بالینی سودوموناس آئروژینوزا در غلظت ۲ میلی گرم بر

جدول شماره ۴. حداقل غلظت بازدارندگی و حداقل غلظت کشندگی عصاره الکلی گیاه شمعدانی

بر سویه های باکتریایی در میکروبرهات دایلوژن

| | عصاره | | | | |
|-----|----------------------|-----------------|-----------|-----------|--------|
| | سویه های باکتریایی | | | اشیشیاکلی | |
| | سودوموناس آئروژینوزا | انتروکوک فکالیس | استاندارد | استاندارد | بالینی |
| MIC | ۱/۵ | ۲ | ۳ | ۱۲/۵ | ۱۰/۵ |
| MBC | ۳/۵ | ۳ | ۶/۵ | ۱۸ | ۱۶ |

محسوب می شود. آنتی بیوتیک های ساختگی در دهه های گذشته هر چند توانسته اند نقش مهمی را در درمان بیماری های عفونی ایفا نمایند، اما مشکلاتی که در رابطه با بروز مقاومت های میکروبی آنتی بیوتیک ها به وجود آمده است باعث شده تا به مصرف بیشتر

بحث و نتیجه گیری

امروزه مسئله مقاومت دارویی و عدم تاثیر آنتی بیوتیک ها با سرعت زیادی در حال پیشرفت است. ظهور میکروارگانیزم های مقاوم به درمان آنتی بیوتیکی یک مشکل جهانی در جامعه و بیمارستان

داروهای گیاهی گرایش پیدا شود (۲۳). بنا بر این در مطالعه حاضر اثر آنتی باکتریال عصاره گیاه شمعدانی پلارگونوم بر روی رشد سه باکتری سودوموناس آئروژینوزا، انتروکوک فکالیس و اشیریشیاکلی مقاوم به چند دارو مورد ارزیابی قرار گرفت. با توجه به نتایج حاصل از مطالعه ما و مقایسه اثر ضد باکتری عصاره الکی گیاه شمعدانی بر روی سه باکتری سودوموناس آئروژینوزا، انتروکوک فکالیس و اشیریشیاکلی مقاوم به چند دارو با گیاهان دیگر نشان دهنده اثر ضد باکتریایی قوی تر و بیشتر عصاره گیاه شمعدانی پلارگونوم بر روی این سه باکتری در مقایسه با عصاره گیاهان دیگر می باشد.

در تحقیقی که توسط Lis-Balchin به منظور میزان اثر ضد باکتریایی عصاره این گیاه بر روی ۲۵ گونه باکتری صورت گرفته بود. اثر ضدباکتریایی این عصاره علیه باکتری سودوموناس آئروژینوزا، میانگین قطر هاله عدم رشد تشکیل شده علیه باکتری حدود ۱۳ میلی متر بوده است (۱۵) در حالی که در این تحقیق عصاره گیاه شمعدانی علیه باکتری سودوموناس آئروژینوزا هاله عدم رشد ۲۴ میلی متری تشکیل شد که اثر ضد باکتری قوی تر عصاره شمعدانی علیه این باکتری را نشان می دهد.

هم چنین با توجه به نتایج حاصل از مطالعه Al-Sum و همکاران در سال ۲۰۱۳ که اثر ضد باکتریایی اثر عصاره الکی گیاه نعناع علیه باکتری سودوموناس آئروژینوزا را مورد بررسی قرار دادند، هاله عدم رشد ۱۳ میلی متری تشکیل شده که در مقایسه با هاله عدم رشد عصاره شمعدانی مورد مطالعه ما بسیار کمتر بود، که نشان از اثر ضد باکتریایی بیشتر گیاه شمعدانی در مقایسه با عصاره الکی گیاه نعناع دارد (۲۴).

در مطالعه Ismail و همکاران در سال ۲۰۱۲ بررسی اثر ضد باکتری عصاره خام ریزوم و برگ خام گیاه شمعدانی ژرانیوم والیکانوم علیه باکتری های اشیریشیاکلی، باسیلوس سوبتیلیس، شیگلا فلکسانزی، استافیلوکوک اورئوس، سودوموناس آئروژینوزا و سالمولناتیفی با روش انتشار دیسک در آگار انجام شد. عصاره خام ریزوم به ترتیب اثر ضد باکتری خود را به

میزان ۵۷/۶۹، ۵۴/۵۴ و ۵۴/۶ درصد علیه باکتری های سودوموناس آئروژینوزا، استافیلوکوک اورئوس و باسیلوس سوبتیلیس نشان داد. هم چنین عصاره برگ خام گیاه شمعدانی اثر ضد باکتری به میزان ۳۰/۷۶ درصد علیه باکتری سودوموناس آئروژینوزا و ۲۹/۰۳ درصد علیه باکتری باسیلوس سوبتیلیس نشان داد (۲۵). نتایج مطالعه ما نشان داد که باکتری سودوموناس به میزان ۲۸/۶ درصد نسبت به دوز ۵۰ mg/ml حساس بوده و هم چنین ۴۲/۹ درصد نسبت به هر دو دوز مورد استفاده نیمه حساس بوده است.

نتایج مطالعه حاضر هم چنین بیانگر این بود که انتروکوک فکالیس استاندارد نسبت به دوز ۵۰ mg/ml عصاره نیمه حساس و به دوز ۲۵ mg/ml عصاره مقاوم بوده است.

در بررسی عصاره های استونی، متانولی و عصاره آبی گیاه شمعدانی عطری بر باکتری های گرم مثبت شامل باسیلوس سرئوس، استافیلوکوک اورئوس، میکروکوک کریستینا، استرپتوکوک فکالیس و باکتری های گرم منفی شامل اشیریشیاکلی، سالمولنا پونی، سرایشیا مارسنس و کلبسیلاپنومونیا با استفاده از روش رقت در محیط جامد آگار صورت گرفت. نتیجه به این صورت مشاهده گردید که به استثنای باکتری استرپتوکوک فکالیس عصاره گیاه فعالیت ضد باکتری قابل توجهی در برابر همه باکتری های گرم مثبت داراست. در باکتری های گرم منفی مورد آزمایش شامل اشیریشیاکلی و سرایشیا مارسنس توسط بالاترین غلظت ها اثر مهاری مشاهده نگردید. مطالعه فعالیت ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی از برگ و ریشه گیاه فعالیت مشابه هر دوی آن ها را در برابر باکتری ها نشان داد (۲۶).

هم چنین مقایسه اثر عصاره الکی گیاه شمعدانی در مطالعات پیشین صورت گرفته علیه باکتری اشیریشیاکلی با تحقیق حاضر نشان دهنده اثر بخشی بالاتر و بهتر عصاره به کار برده شده در این مطالعه است به طوری که قطر هاله عدم رشد تشکیل شده در مطالعه پیشین حدود ۸ میلی متر بوده در حالی که در مطالعه حاضر قطر هاله برابر با ۱۴ میلی متر می باشد. این تفاوت را می توان به این دلیل ذکر کرد که در

مطالعه حاضر دوز مورد استفاده بالاتر از دوز مورد استفاده در مطالعه Pullagummi و همکاران بوده است (۲۷).

هم چنین بررسی اثر ضد میکروبی عصاره های متانولی، استونی و عصاره آبی از ریشه و برگ گیاه شمعدانی پلارگونیم رنیفورم روی باکتری های گرم مثبت شامل باسیلوس سرئوس، استافیلوکوک میکروکوکوس اپیدرمیس، استافیلوکوک اورئوس، میکروکوکوس کریستینا، استرپتوکوک فکالیس و باکتری های گرم منفی شامل سالمولنا پونی، سودوموناس آئروژینوزا و کلبسیلا پنومونیا فعالیت ضد میکروبی قابل توجهی نشان داد. عصاره ریشه و برگ گیاه فعالیت ضد باکتری مشابه در برابر باکتری های گرم مثبت دارا بود در حالی که ریشه گیاه فعالیت بیشتری را در برابر باکتری های گرم منفی نسبت به برگ نشان داد (۲۸).

تحقیقات نشان داده اند که عصاره اتانولی دارای ترکیبات آلكالوئیدی و مونوترپن هایی است که فعالیت ضد میکروبی علیه باکتری های گرم منفی دارند. معمولاً باکتری های گرم منفی به ترکیبات ضد میکروبی گیاهی مقاوم هستند، مگر آن که از غلظت های بالا از آن ها استفاده شود (۲۹).

عصاره های گیاهی تهیه شده از حلال های قطبی، بر باکتری های گرم مثبت موثرترند و عصاره های حاصل از حلال های غیرقطبی و یا با قطبیت کمتر، بر مهار رشد باکتری های گرم منفی موثرترند. این یافته ها با قطبیت ترکیبات موجود در عصاره ها و توانایی آن ها در نفوذ به دیواره سلول ها با ویژگی آب دوستی در باکتری های گرم مثبت و آب گریزی یا چربی دوستی در باکتری های گرم منفی ارتباط دارد.

از آن جایی که گیاه شمعدانی عطری دارای ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی است دارای خاصیت ضد باکتریایی و آنتی اکسیدانی هستند، این ویژگی در عصاره گیاهان دارای این ترکیبات می تواند مربوط به حضور این مواد در آن ها باشد. فعالیت ضد میکروبی فنل ها ممکن است در نتیجه وارد شدن به ساختمان و تغییر مکانیسم نفوذپذیری میکروارگانیسم، لیزوزوم و دیواره سلول باشد. لکتین و پروتئین ها، پپتیدهایی با خاصیت مهارکنندگی میکروارگانیسم ها هستند که دارای بار مثبت و باندهای دی سولفیدی هستند. این ترکیبات در بافت های بیرونی گیاه قرار دارند و اولین خط دفاعی در برابر حمله پاتوژن ها محسوب می شوند. مکانیسمی که مسئول سمیت فنل ها علیه میکروارگانیسم ها است، احتمالاً شامل مهار آنزیمی ترکیبات اکسید شده و یا از طریق واکنش با گروه های سولفیدریل و یا یک واکنش غیر اختصاصی پروتئین ها است (۳۰).

با توجه با خاصیت ضد میکروبی عصاره گیاه شمعدانی به باکتری های مقاوم به آنتی بیوتیک ها عصاره این گیاه می تواند به عنوان یک عامل بالقوه درمانی ضد میکروبی علیه عفونت های ناشی از این عوامل بیماری زا در مطالعات فارماکولوژیک آینده مورد استفاده قرار گیرد.

سپاسگزاری

این مقاله حاصل پایان نامه کارشناسی ارشد می باشد. نویسندگان این مقاله از پرسنل آزمایشگاه میکروب شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد همدان برای فراهم نمودن شرایط انجام این تحقیق کمال تشکر و قدردانی را می نمایند.

References

1. Mcadam AJ, Hooper DC, DeMaria A, Limbago BM, O'Brien TF, McCaughey B. Antibiotic resistance how serious is the problem and what can be done? *Lab Med* 2013;3:124-7. doi: 10.1373/clinchem.2011.181636
2. Hanberger H, Walther S, Leone M, Barie PS, Rello J, Lipman J, et al. Increased mortality associated with meticillin resistant *Staphylococcus aureus* infection

- in the intensive care unit results from the EPIC II study. *Int J Antimicrob Age* 2011;38:331-5. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2011.05.013
3. Sunenshine RH. Multidrug resistant acinetobacter infection mortality rate and length of hospitalization. *Number Emerg Infect Dis* 2007;13: 97-103. doi: 10.3201/eid1301.060716

4. Paterson DL. Resistance in gram negative bacteria Enterobacteriaceae. *Am J Med Sci* 2006;119:S20-S8. doi: 10.1016/j.amjmed.2006.03.013
5. Rice LB. Antimicrobial resistance in gram positive bacteria. *Am J Infect Control* 2006;34:S11-S9. doi: 10.1016/j.ajic.2006.05.220
6. Stewart PS, Costerton JW. Antibiotic resistance of bacteria in biofilms. *lancet* 2001;358:135-8. doi.org/10.1016/S0140-6736(01)05321-1
7. Soltandallal M, Yazdi M, Aghaamiri S, Haghghatkhajavi S, Abedimohtasab T, Aminharati F, et al. Antimicrobial effect of zataria multiflora and rosemarinus officinalis on antibiotic resistant Staphylococcus aureus strains isolated from food. *J of Med Plants* 2014;4:41-7.
8. Kheiripour N, Karimi J, Khodadadi I, Tavilani H, Goodarzi MT, Hashemnia M. Silymarin prevents lipid accumulation in the liver of rats with type 2 diabetes via sirtuin1 and SREBP-1c. *J Bas Clin Physiol Pharmacol* 2018;29:301-8. doi: 10.1515/jbcpp-2017-0122.
9. Rahimi R, Karimi J, Khodadadi I, Tayebinia H, Kheiripour N, Hashemnia M, et al. Silymarin ameliorates expression of urotensin II and its receptor and attenuates toxic oxidative stress in the heart of rats with type 2 diabetes. *Biomed Pharm* 2018;101:244-50. doi: 10.1016/j.biopha.2018.02.075.
10. Khodadadi S. Role of herbal medicine in boosting immune system. *Immunopathol Persa* 2016;1: 123-7.
11. Sharifi A, Seifi T, Mohammadzadeh A, Hammoun Navard S, Pajohialamoti MR. [Antibacterial activity of alcoholic extract of ferulagoangolata]. *JIUMS* 2015;23:202-8. (Persian)
12. Ahmadi z, Sattari M, Tabarrae B, Bigdeli M. [Identification of the constituents of Achillea santolina essential oil and evaluation of the anti microbial effects of its extract and essential oil]. *AMUJ* 2011;14:1-10. (Persian)
13. Singh D, Kumar T, Gupta VK, Chaturvedi P. Antimicrobial activity of some promising plant oils molecules and formulations. *Indian J Exp Biol* 2012;50:714-7.
14. Singh B, Agrawal R, Dubey S, Bhardwaj M, Vadhana P. Antimicrobial activity of Rose Geranium Pelargonium roseum essential oil on bacteria of veterinary clinical origin. *Asian J Pharmaceut Technol Inn* 2015;3:1-5.
15. Lisbalchin M, Deans S. Antimicrobial effects of hydrophilic extracts of Pelargonium species. *Lett Appl Microbiol* 1996;23:205-7. doi.org/10.1111/j.1472-765X.1996.tb00066.x
16. Lewu F, Grierson D, Afolayan A. The leaves of Pelargonium sidoides may substitute for its roots in the treatment of bacterial infections. *Conserv Biol* 2006;128:582-4. doi.org/10.1016/j.biocon.2005.10.018
17. Lewu F, Grierson D, Afolayan A. Extracts from Pelargonium sidoides. inhibit the growth of bacteria and fungi. *Pharm Biol* 2006;44:279-82. doi.org/10.1080/13880200600714137
18. Behbahani BA, Shahidi F, Yazdi FT, Mohebbi M. Antifungal effect of aqueous and ethanolic mangrove plant extract on pathogenic fungus invitro. *Intl J Agron Plant Prod* 2013;4:1652-8.
19. Behbahani BA, Yazdi FT, Mortazavi A, Zendeboodi F, Gholian MM. Effect of aqueous and ethanolic extract of Eucalyptus camaldulensis L. *J Paramed Sci* 2013;4: 89-99. doi: https://doi.org/10.22037/jps.v4i3.4666
20. Magiorakos AP, Srinivasan A, Carey R, Carmeli Y, Falagas M, Giske C, et al. Multidrug-resistant extensively drug resistant and pandrug resistant bacteria an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin Microbiol Infect* 2012;18:268-81. doi: 10.1111/j.1469-0691.2011.03570.x
21. Moradi A, Ebrahimipour G, Karkhane M, Marzban A. Surveying the antioxidant and the antimicrobial effects of aqueous and ethanolic extract of rumex alveollatus L. On In-vitro indicator microorganisms. *J of Fasa Uni of Med Sci* 2015;4: 418-26.
22. Mehraban A, Haddadkhodaparast MH, Mehrabansangatash M. [Evaluation of inhibitory and lethal effects of aqueous ethanolic and hydroalcoholic extracts of aerial parts of salvia chorassanica against some gram negative and gram positive bacteria invitro]. *Qom Uni Med Sci J* 2016;10:2-11. (Persian)
23. Vadhana P, Singh B, Bhardwaj M, Singh S. Emergence of herbal antimicrobial

- drug resistance in clinical bacterial isolates. *Pharm Anal Acta* 2015;6:434. doi: 10.4172/2153-2435.1000434
24. Alsum BA, Alarfaj AA. Antimicrobial activity of the aqueous extract of mint plant. *Science* 2013;2:110-3. doi: 10.11648/j.sjcm.20130203.19
25. Ismail M, Hussain J, Khan Au, Khan AL, Ali L, Khan Fu, et al. Antibacterial antifungal cytotoxic phytotoxic insecticidal and enzyme inhibitory activities of *Geranium wallichianum*. *J Evid Bas Comple Alt Med* 2012;2012:1-8. doi.org/10.1155/2012/305906
26. Adewusi E, Afolayan A. Antibacterial, antifungal and antioxidant activity of the roots and leaves of *Pelargonium reniforme* Curtis. *Afr J Biotechnol* 2009;8: 6425-33. doi.org/10.5897/AJB09.823
27. Pullagummi C, Rao NB, Singh BCS, Bheemagani AJ, Kumar P, Venkatesh K, et al. Comparative studies on antibacterial activity of patchouli *pogostemon cablin* benth and *Geranium aromatic medicinal*. *Afr J Biotechnol* 2014;13: 2379-84. doi.org/10.5897/AJB12.1369
28. Saraswathi J, Venkatesh K, Baburao N, Hilal MH, Rani AR. Phytopharmacological importance of *Pelargonium* species. *J Med Plants* 2011;5:2587-98.
29. Hounsome N, Hounsome B, Tomos D, Edwards G. Plant metabolites and nutritional quality of vegetables. *J Food Sci* 2008;73:R48-R65. doi: 10.1111/j.1750-3841.2008.00716.x
30. Mehrabian S. The study of antioxidant and anticarcinogenic green tea and black tea. *Pak J Biol Sci* 2007;10:989-91. doi: 10.3923/pjbs.2007.989.991

Study the Antibacterial Effects of Alcoholic Extract of Pelargonium Sp on the Growth of three Bacteria: Pseudomonas aeruginosa, Enterococcus faecalis and Multidrug-Resistant E.coli

Morris S¹, Momen A^{*1}, Yousefimahmoud N¹

(Received: March 4, 2017)

Accepted: May 17, 2017)

Abstract

Introduction: According to the increasing resistance of pathogenic bacteria against antibiotics, searching to find new alternatives to chemical drugs and antibiotics has recently become popular. Therapeutic and pharmaceutical effects of medicinal plants have been considered for decades. The aim of this study was to investigate the effect of alcoholic extract of Geranium plant on the growth of antibiotic resistant bacteria that are prevalent in hospitals.

Materials & methods: To investigate the antimicrobial activity of Geranium, clinical and standard strains of Pseudomonas aeruginosa and Escherichia coli bacteria and standard strain of Enterococcus faecalis were treated by 25 and 50 mg/ml concentrations of alcoholic extract of Geranium. For this purpose, disk diffusion method was employed. In order to measure minimum inhibitory concentration (MIC)

and minimum bactericidal concentration (MBC), micro broth dilution method was applied.

Findings: The most sensitive bacterium was Pseudomonas aeruginosa due to showing the highest diameter of the inhibition zone (24 mm). The results showed that the alcoholic extract of Geranium plant at a concentration of 50 mg/ml had a higher antimicrobial effect.

Discussion & conclusions: The results showed that the alcoholic extract of Geranium plant has anti-bacterial properties. According to being indigenous and having therapeutic effects, further are recommended to identify the therapeutic effects.

Keywords: Disc fusion, Drug resistance, MIC, MBC, Pelargonium

1. Dept of Microbiology, Faculty of Science, Hamedan Branch, Islamic Azad University, Hamedan, Iran

* Corresponding author Email: amomen89@gmail.com