بررسی فعالیت ضد میکروبی گیاه دارویی چریش تهیه شده با حلال‌های مختلف بر روی باکتری‌های بیماری‌زا

حبیب دهمرده*[۱]، رضا روحانی[۲]، زهرا بیگمی[۳]

۱- دانشکده دامپزشکی، دانشگاه زابل، زابل، ایران.
۲- گروه جراحی مغز و اعصاب، بیمارستان امیرالمومنین، دانشگاه علوم پزشکی زابل، زابل، ایران.
۳- دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی زاهدان، زاهدان، ایران.

دریافت مقاله: ۷ آبان ۱۴۰۰، بازنگری: ۳۰ بهمن ۱۴۰۰، پذیرش نهایی: ۸ اسفند ۱۴۰۰

چکیده

چریش (*Azadirachta indica*) به‌عنوان یک گیاه دارویی به دلیل خواص ضد باکتریایی، ضد مالاریا، ضد ویروسی و ضد قارچی شناخته شده است. هدف از این مطالعه بررسی فعالیت ضد میکروبی گیاه دارویی چریش تهیه شده با حلال‌های مختلف بر روی باکتری‌های بیماری‌زا است. قسمت‌های مختلف گیاه دارویی چریش از منطقه سیستان و بلوچستان جمع‌آوری گردیده، در سایه خشک و با استفاده از حلال‌های مختلف عصاره‌گیری انجام شد و قطر هاله مهاری در رقت ۱۰۰ میکروگرم/میلی‌لیتر در برابر سویه‌های باکتری بررسی گردید. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که عصاره استونی میوه چریش بیشترین تأثیر بر *انتروکوکوس فیکالیس*، *باسیلوس سرئوس* و *شیگلا دیسنتری* داشته است و عصاره متانولی و اتانولی میوه بیشترین مهارکنندگی بر روی *اشرشیاکلی* و *سودوموناس آئروژینوزا* از خود نشان داده است همچنین عصاره استونی برگ بیشترین اثر مهارکنندگی بر روی *لیستریا مونوسیتوژنز* از خود نشان داده است. نتایج نشان داد که برگ و میوه گیاه دارویی چریش با حلال‌های مختلف، اثر مهاری متفاوتی علیه میکروب‌ها داشته‌اند.

واژگان کلیدی: *حلال‌های عصاره‌گیری، گیاه چریش، باکتری بیماری‌زا، قطر هاله مهار رشد*

* پست الکترونیک نویسنده مسئول مکاتبه: h.dahmardeh@gmail.com

مقدمه

گیاهان دارویی به‌عنوان ذخایر و گنجینه‌های ژنتیکی، بخش مهمی از تنوع زیستی در بخش کشاورزی محسوب می‌شوند. با توجه به نقش ویژه گیاهان دارویی در مدیریت پایدار به‌ویژه در ابعاد توسعه اقتصادی، زیست- محیطی، بهداشتی، اشتغال، امنیت غذایی و ذخایر ژنتیکی مطالعه و بررسی آنها حائز اهمیت است. رویکرد روزافزون به استفاده از گیاهان دارویی در سطح جهانی، اهمیت کشت و تولید این گیاهان را بیشتر کرده است. استفاده از گیاهان دارویی به‌منظور استخراج عصاره‌های آنها برای تولید دارو و جایگزین کردن آنها به جای داروهای شیمیایی برای حفظ سلامتی انسان‌ها از مهم‌ترین نیازهای تمدن امروزی است (۲۹).

گیاهان دارویی حاوی ذخایر ارزشمندی از ترکیبات فعال زیستی ازجمله متابولیت‌های ثانویه هستند که بسیاری از آنها اثرات ضد میکروبی، آفت‌کشی یا دورکنندگی داشته و در دفاع گیاهان در برابر آفات و بیماری‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرند. گیاهان بالغ بر یکصد هزار متابولیت ثانویه طبیعی با وزن مولکولی پایین تولید می‌کنند. چریش با نام علمی Azadirachta indica از خانواده سنجد تلخ ( ) Meliaceae ازجمله گیاهان دارویی با خاصیت حشره‌کشی و کنه‌کشی است که تاکنون موفقیت‌های زیادی در استفاده از ترکیبات مختلف آن در کنترل آفات حاصل شده است (۵، ۲۵).

چریش درختی همیشه‌سبز و بومی کشورهای جنوب و جنوب شرق آسیا بوده و در هندوستان، پاکستان، سریلانکا، تایلند، برمه، مالزی، بنگلادش و اندونزی پراکنده است. این درخت در نواحی گرم جنوب و جنوب شرقی ایران از جمله سواحل خلیج فارس، بندرعباس، جزیره قشم، چابهار و میناب می‌روید و احتمالاً از هندوستان وارد ایران شده است (۶، ۱۰).

خواص ضد قارچی، ضد باکتریایی و حشره‌کشی عصاره برگ و بذر چریش ناشی از وجود ترکیبات فنلی، فلاونوئید، لیمونید، ترپن و ترپنوئید می‌باشد (۲۴).

چندین ترکیب فعال شیمیایی در این گیاه از جمله گلیکوزیدها، کومارین، تانن، آزادیراکتین، نیمبین، نیمبیدین، دی‌ترپنوئیدها، تری‌ترپنوئیدها، پروتئین‌ها، کربوهیدرات‌ها، ترکیبات گوگردی، پلی‌فنولیک‌ها وجود دارد (۲۲). بخش‌های مختلف درخت چریش، از جمله برگ‌ها، پوست، میوه، گل‌ها، روغن و صمغ در درمان برخی بیماری‌ها نظیر سرطان، فشار خون بالا، بیماری‌های قلبی و دیابت کاربرد دارد. اثرات بالقوه‌ای که هنگام استفاده از این عصاره‌ها مشاهده می‌شود، مطمئناً می‌تواند به مکانیسم‌های سلولی و مولکولی نسبت داده شود. این مکانیسم‌ها شامل مهار رادیکال‌های آزاد، سم‌زدایی، ترمیم DNA، تغییر چرخه سلولی، کاهش مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده و اتوفاژی، نظارت بر سیستم ایمنی، ضد التهاب، ضد فعالیت‌های رگ‌زایی و ضد متاستاتیک و توانایی تعدیل مسیرهای سیگنالی مختلف است (۲۶).

روغن چریش که به راحتی در نواحی شمال هند در دسترس است برای درمان سرطان، بیماری‌های پوستی، اختلالات گوارشی و ایدز فرموله شده است (۳۰).

عصاره برگ چریش فعالیت ضد باکتریایی بالقوه را نشان داد (۱۶). همچنین مشخص شد که روغن چریش در کشتن باکتری‌های مقاوم به چند داروی جدا شده از انسان موثر است (۱۴). یک گلیکولیپید محلول در آب، سولفونوکینووسیل دی‌آسیل گلیسرید جدا شده از برگ چریش، فعالیت بازدارنده‌ای را در برابر *سالمونلا تیفی*، *شیگلا دیسانتریا*، *اشرشیاکلی* و *ویبریو کلرا* نشان داد (۳).

مواد مؤثره چریش بر سیستم هاضمه، اندوکرین و تولید مثل حشرات اثرگذار است (۱۷). پیچیدگی ترکیبات موجود در اسانس‌های گیاهی می‌تواند تأثیر مثبتی بر کاربرد اسانس‌ها در مدیریت بیمارگرهای گیاهی داشته باشد. اسانس‌ها به دلیل داشتن خاصیت آب‌گریزی خود قادرند غشای سلولی میکروارگانیسم‌ها را از بین ببرند و با ایجاد اختلال و بی‌نظمی در زنجیره انتقال الکترون و کارکرد آنزیم‌ها، فعالیت سلول‌های میکروارگانیسم‌ها را به‌طور قابل‌توجهی کاهش دهند (۱۸). بر این اساس، هدف از این مطالعه بررسی فعالیت ضد میکروبی گیاه دارویی چریش تهیه‌شده با حلال‌های مختلف بر روی باکتری‌های بیماری‌زا بوده است.

مواد و روش‌ها

تهیه نمونه : گیاه مورد استفاده در این تحقیق از شهرستان سرباز (سیستان و بلوچستان) جمع‌آوری و در هرباریوم گیاهی دانشگاه آزاد اسلامی واحد جیرفت تعیین گونه شد. پس از جمع‌آوری گیاهان، برگ‌ها در شرایط مناسب و در سایه خشک گردیده و جهت تهیه عصاره با آسیاب خرد شد.

تهیه عصاره: برای تهیه عصاره از روش ماسراسیون استفاده شد (۲۴). به این صورت که پس از خرد کردن برگ و میوه، ۵۰ گرم از هر نمونه به مدت ۴۸ ساعت در اتانول، هگزان، استون و متانول خیسانده شده و پس از گذشت این مدت زمان با کاغذ صافی صاف گردید. بعد از اتمام عملیات عصاره‌گیری، عصاره‌های به دست آمده با استفاده از دستگاه روتاری (تقطیر خلا (شرکت طیف آزما طب، ایران)) در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد تغلیظ شد و در دمای ۴۰ درجه به مدت ۲ روز خشک گردید.

سویه های باکتریایی و شرایط کشت: در این تحقیق از سویه‌های باکتریایی استاندارد *انتروکوکوس فیکالیس* (ATCC 29212)، *اشریشیاکلی* (ATCC 25922)، *شیگلا دیسنتری* (ATCC 1288)، *سودوموناس آئروژینوزا* (ATCC 27853)، *باسیلوس سرئوس* (ATCC 1015)و *لیستریا مونوسیتوژنز* (ATCC 1298) استفاده شد.

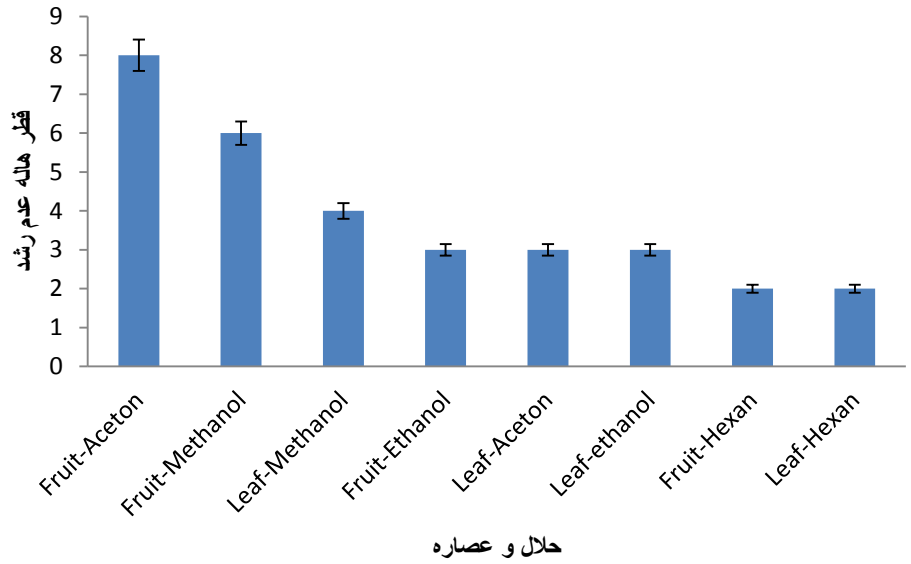
از کشت تازه باکتری، سوسپانسیونی با رقت نیم مک فارلند (کدورت معادل $۱/۵ \times ۱۰^{۸}$ باکتری در هر میلی‌لیتر)،تهیه شد و به صورت چمنی در سطح محیط کشت مولرهینتون آگار به‌صورت یکنواخت کشت داده شد. سپس در فواصل مناسب، تعدادی چاهک به قطر ۶ میلی‌متر با عمق ۵ میلی‌متر ایجاد گردید. ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره‌ها درون چاهک مربوط به آن ریخته شد. آنتی‌بیوتیک سیپروفلوکساسین به‌عنوان شاهد مثبت استفاده گردید. بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون در ۳۷ درجه سانتی‌گراد، قطر هاله عدم رشد نمونه‌های باکتریایی بر حسب میلی‌متر اندازه‌گیری گردید. به‌منظور تأیید نتایج حاصل از آزمایش برای هر یک از عصاره‌ها و برای هر نمونه باکتریایی، سه بار تکرارگردید.

نتایج

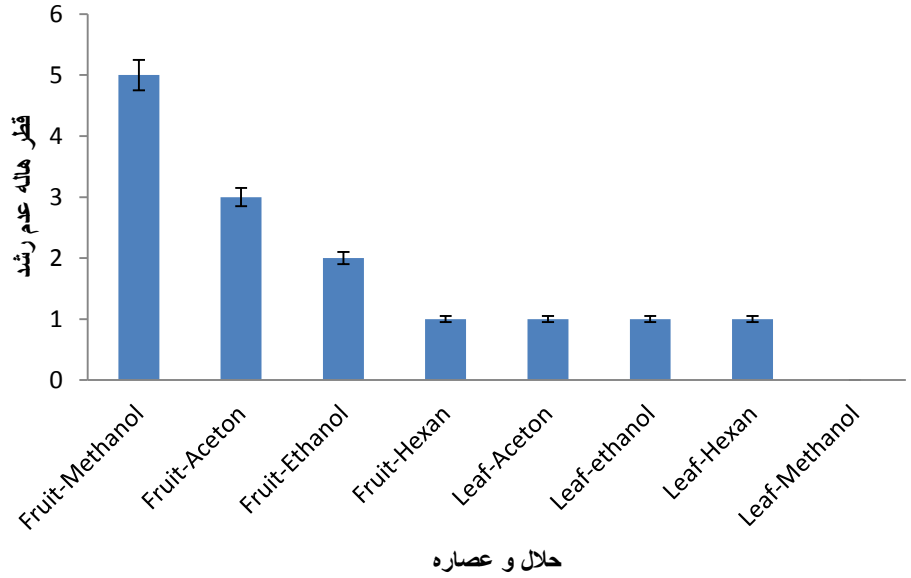
نتایج آنالیز واریانس نشان داد که بیشترین و کمترین تأثیر گیاه دارویی چریش بر *انتروکوکوس فیکالیس* به ترتیب حاصل از عصاره استون بافت میوه و عصاره هگزان برگ بود (نمودار ۱). نمودار ۲ نشان می‌دهد که بیشترین تأثیر مهار رشد گیاه دارویی چریش بر *اشریشیاکلی* حاصل از عصاره متانول میوه و کمترین میزان مربوط به عصاره متانول برگ مشاهده شد (نمودار ۲). عصاره استونی میوه و برگ به‌ترتیب بیشترین و کمترین تاثیر مهار رشد را بر باکتری *شیگلا دیسنتری* داشته است (نمودار ۳).

علاوه بر آن بیشترین تأثیر مهار رشد عصاره اتانولی میوه بر *سودوموناس آئروژینوزا* بود (نمودار ۴). همچنین عصاره استونی میوه علاوه بر *انتروکوکوس فیکالیس* بیشترین تأثیر و عصاره

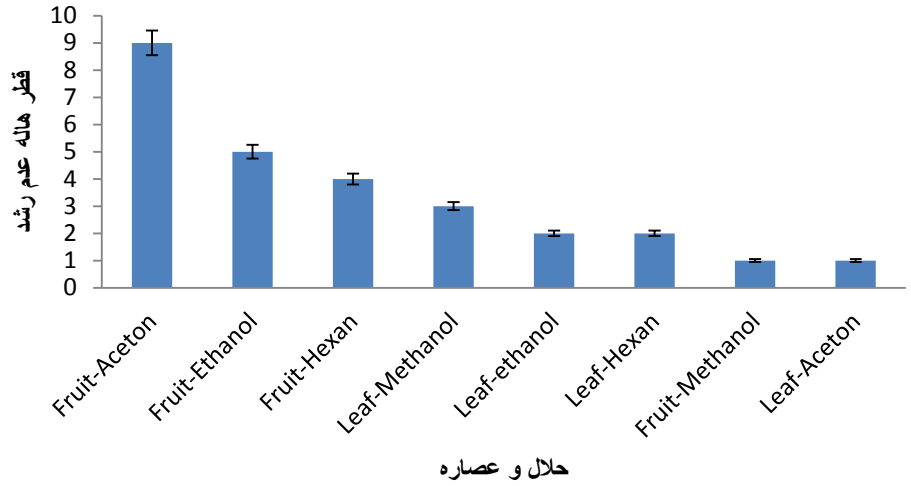
هگـزان میـوه کمتـرین میـزان تـأثیر را روی *باسـیلوس سـرئوس* داشـت (نمـودار ۵). بیشـترین و کمتـرین تـأثیر مهار رشد بـر *لیسـتریا مونوسـیتوژنز* بـه‌ترتیـب حاصـل از عصاره استون بـرگ و عصـاره هگـزان و بافـت میـوه بـوده است (نمودار ۶).



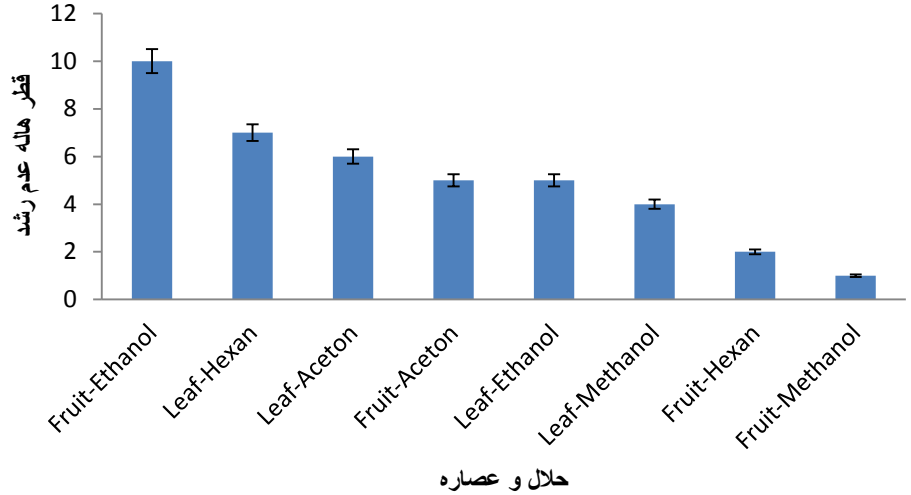
نمودار ۱- تأثیر نوع بافت و حلال عصاره‌گیری بر قطر هاله (میلی‌متر) عدم رشد *انتروکوکوس فیکالیس*



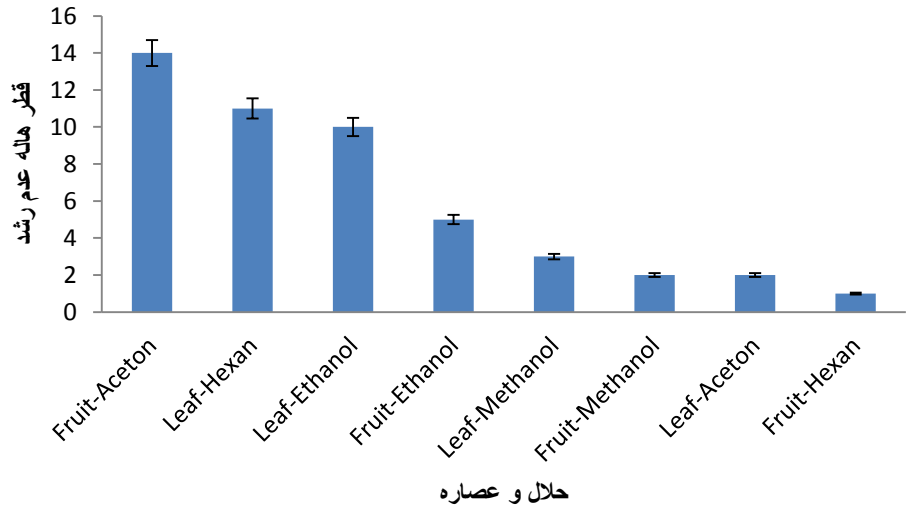
نمودار ۲- تأثیر نوع بافت و حلال عصاره‌گیری بر قطر هاله (میلی‌متر) عدم رشد *اشریشیاکلی*



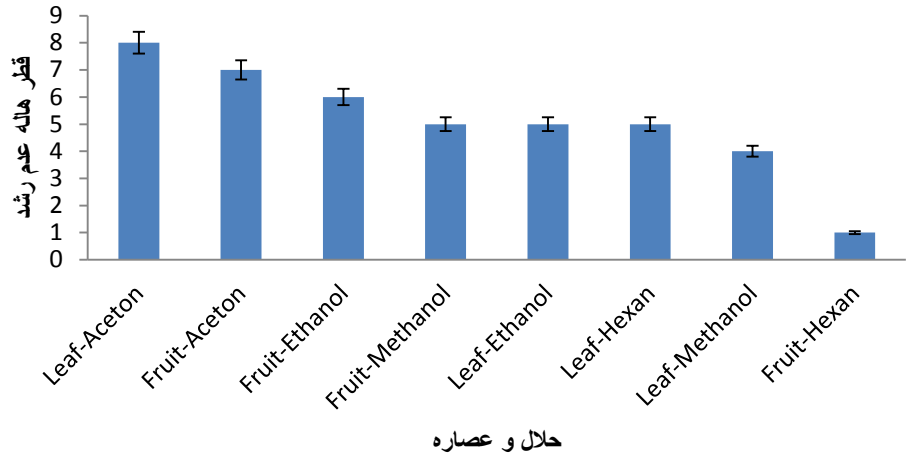
نمودار ۳- تأثیر نوع بافت و حلال عصاره‌گیری بر قطر هاله (میلی‌متر) عدم رشد *شیگلا دیسنتری*



نمودار ۴- تأثیر نوع بافت و حلال عصاره‌گیری بر قطر هاله (میلی‌متر) عدم رشد *سودوموناس آئروژینوزا*



نمودار ۵- تأثیر نوع بافت و حلال عصاره‌گیری بر قطر هاله (میلی‌متر) عدم رشد *باسیلوس سرئوس*



نمودار ۶- تأثیر نوع بافت و حلال عصاره‌گیری بر قطر هاله (میلی‌متر) عدم رشد *لیستریا مونوسیتوژنز*

بحث

گیاهان دارویی به‌عنوان ذخایر و گنجینه‌های ژنتیکی، بخش مهمی از تنوع زیستی در بخش کشاورزی محسوب می‌شوند. با توجه به نقش ویژه گیاهان دارویی در مدیریت پایدار به‌ویژه در ابعاد توسعه اقتصادی، زیست محیطی، بهداشتی، اشتغال، امنیت غذایی و ذخایر ژنتیکی، بررسی آنها حائز اهمیت است. رویکرد روزافزون به استفاده از گیاهان دارویی در سطح جهانی، اهمیت کشت و تولید این گیاهان را بیشتر کرده است. استفاده از گیاهان دارویی به‌منظور استخراج عصاره‌های آنها برای تولید دارو و جایگزین کردن آنها به جای داروهای شیمیایی برای حفظ سلامتی انسان‌ها از مهم‌ترین نیازهای تمدن امروزی می‌باشد.

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که حلال‌ها و بافت‌های مختلف گیاه دارویی چریش تأثیر متفاوتی بر عوامل مختلف میکروبی دارند. اجزای گیاه چریش (*Azadirachta indica*) دارای مهارکنندگی رشد باکتری از طریق تجزیه دیواره سلولی، می‌باشند (۲۳). عصاره اتانولی برگ چریش فعالیت ضد باکتریایی در شرایط آزمایشگاهی علیه *استافیلوکوکوس اورئوس* و استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین با بیشترین مناطق بازدارندگی در غلظت ۱۰۰ درصد نشان داده است (۳۱). نتایج بررسی فعالیت ضد باکتریایی عصاره برگ چریش در برابر برخی از سویه‌های حساس و مقاوم به آنتی‌بیوتیک باکتری‌های بیماری‌زای مهم انسانی نشان داده است که عصاره متانولی قوی‌ترین اثر بازدارنده رشد (نسبت به حلال‌های اتیل استات و اتانولی) را بر هر دو سویه استاندارد و جدا شده بالینی *سودوموناس آئروژینوزا* داشته است (۱۹). در تحقیق حاضر، بیشترین و کمترین تأثیر مهار رشد بر *سودوموناس آئروژینوزا* به‌ترتیب حاصل از عصاره اتانولی و متانولی میوه بوده است . دلیل اختلاف نتایج به دست آمده می‌تواند به شرایط حاکم بر هر دو آزمایش از جمله، گونه گیاه، نوع بافت گیاهی، سن گیاه، خاستگاه گیاه، فصل برداشت و غیره باشد (۷، ۳۴).

بررسی نتایج عصاره اتانولی و عصاره آبی برگ و پوست خشک و تازه *A. indica* (چریش) علیه *اشریشیاکلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* نشان داده که مواد تازه چریش بیشترین تأثیر را بر روی *اشریشیاکلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* داشته‌اند و در کل عصاره‌های تازه کارآمدتر از عصاره‌های خشک بوده‌اند. *استافیلوکوکوس اورئوس* تنها باکتری بود که به‌طور مستعد تحت تأثیر عصاره‌های چریش قرار

گرفته است، در حالی که *اشریشیاکلی* به هیچ‌یک از آنها پاسخ نداد (۹). در صورتی‌که در تحقیق حاضر مشخص شد که بیشترین تأثیر مهار رشد گیاه دارویی چریش بر *اشریشیاکلی* حاصل از عصاره متانولی میوه بوده است. ضمناً بیشترین تأثیر مهار رشد گیاه دارویی چریش بر *سودوموناس آئروژینوزا* حاصل از عصاره اتانولی و بافت میوه بوده است.

بررسی و نتایج عصاره‌های آبی، اتانولی و اتیل استات برگ چریش بر رشد برخی از پاتوژن‌های انسانی (*Aspergillus flavus*، *Aspergillus fumigatus*، *Aspergillus niger*، *Aspergillus terreus*، *Candida albicans* و *Microsporum gypseum*) نشان داده که غلظت ۲۰ درصد عصاره اتیل استات بالاترین فعالیت بازدارندگی را در برابر تمام پاتوژن‌های آزمایشی در تمام غلظت‌های استفاده شده در مقایسه با غلظت‌های مشابه سایر عصاره‌ها نشان داد (۲۰). عصاره‌های آبی و متانولی برگ چریش اثرات مهاری علیه باکتری *اشریشیاکلی*، گونه‌های *سالمونلا* و *استافیلوکوکوس اورئوس* نشان داده‌اند (۲۱). عصاره اتانولی برگ چریش اثرات بازدارندگی علیه *اشریشیاکلی*، *سودوموناس آئروژینوزا* و *استافیلوکوکوس اورئوس* نشان داد (۲۸).

در مطالعه vestby و همکاران نتایج نشان داده شد که عصاره گیاه چریش مهارکننده عفونت‌های بیوفیلم ناشی از باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس*، *انتروکوکوس فیکالیس* و *سودوموناس آئروژینوزا* بوده است (۳۳) و همچنین عصاره اتانولی برگ چریش مهارکننده بیوفیلم باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* و استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین در رقت‌های ۶۲/۵ و ۱۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر بوده است (۲۷). فعالیت ضد میکروبی عصاره‌های متانولی، آبی و اتری برگ‌های چریش بر روی شش نوع باکتری شامل *باسیلوس سوبتیلیس* و *استافیلوکوکوس اورئوس*، *اشریشیاکلی*، *پروتئوس ولگاریس*، *سودوموناس آئروژینوزا* و *سالمونلا تیفی* بررسی شد، نتایج نشان داد که بیشترین مهارکنندگی عصاره متانولی چریش در برابر *باسیلوس سوبتیلیس* با ناحیه بازدارندگی در حدود ۲۸ میلی‌متر بوده است (۱۱) و همچنین در مطالعه دیگری نیز بیان شد که عصاره چریش مهارکننده *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی‌سیلین است (۳۲).

در مطالعه Ali و همکاران که فعالیت ضد میکروبی برگ چریش بر روی باکتری‌های *Pasteurella multocida*, *Salmonella pullorum*, *Salmonella gallinarum* and *Escherichia coli* را بررسی کردند، نتایج نشان داد که عصاره برگ چریش مهارکنندگی خوبی بر روی باکتری‌ها داشته است (۱).

در مطالعه Abalaka و همکاران که حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی عصاره برگ چریش بر روی باکتری‌های *سودوموناس آئروژینوزا*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، و *اشریشیاکلی* را بررسی کردند نتایج نشان داد که بیشترین حساسیت مربوط به باکتری *سودوموناس آئروژینوزا* و بعد *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشریشیاکلی* بوده است (۲) که با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد.

نتایج مطالعه Koona. و همکاران که فعالیت ضد میکروبی عصاره متانولی چریش را بررسی کردند نشان داد که بیشترین اثر مهارکنندگی بر روی باکتری‌های *اشریشیاکلی* و *انتروکوکوس فیکالیس* بوده و اثرات کمتر در برابر باکتری *باسیلوس سوبتیلیس*، *اشریشیاکلی* و *کلبسیلا پنومونیه* بوده است (۱۶).

در بسیاری از مطالعات فعالیت ضد باکتریایی بالایی در برابر *کلبسیلا پنومونیه*، *اشریشیاکلی* و *باسیلوس سوبتیلیس* مشاهده شد و در مطالعات کمی فعالیت ضد میکروبی عصاره متانولی روغن

چریش در برابر *اشریشیاکلی* و *کلبسیلاپنومونیه* مشاهده شد (۱۳).

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که حلال‌ها و بافت‌های مختلف گیاه دارویی چریش تأثیر متفاوتی بر انواع مختلف میکروب‌ها داشتند. چریش به دلیل منبع غنی آنتی‌اکسیدان به‌عنوان خاصیت مهار رادیکال‌های آزاد کاربرد دارد. چریش همچنین از طریق تنظیم فعالیت‌های آنزیمی پیش التهابی از جمله سیکلواکسیژناز (COX) و آنزیم لیپواکسیژناز (LOX) نقش ضد التهابی دارد (۱۲). از طرفی با توجه به این که این گیاه صرفاً در غلظت‌های پایین برای لنفوسیت‌های انسانی غیر سمی است (۱۵)، لذا پیشنهاد می‌گردد استفاده از آن صرفاً در شرایط آزمایشگاهی و در صورت استفاده انسانی، صرفاً با تجویز پزشک و بعد از گذراندن تست‌های بالینی مقدور باشد.

References

1- Ali E, Islam S, Hossen I, Khatun M, Islam A. Extract of neem (*Azadirachta indica*) leaf exhibits its bactericidal effect against multidrug resistant pathogenic bacteria of poultry. *Vet Med Sci*. 2021; 7(5): 1921–1927.

2- Abalaka M, Oyewole OA, Kolawole AR. Antibacterial activities of azadirachta indica against some bacterial pathogens. *Adv Life Sci*. 2012; 2(2): 5-8.

3- Bharitkar YP, Bathini S, Ojha D, Ghosh S, Mukherjee H, Kuotsu K, *et al.* Antibacterial and antiviral evaluation of sulfonoquinovosyldiacylglyceride: A glycolipid isolated from *Azadirachta indica* leaves. *Letters in Applied Microbiology*. 2014; 58: 184–189.

4- Chibuzo UC. Antimicrobial Activity of *Azadirachta indica* (Neem) Leaf Extract on Some Bacteria. *Int J Curr Microbiol Appl Sci.* 2019; 8: 431-437.

5- Deng Y, Shi D, Yin Z, Guo J, Jia R, Xu J, *et al.* Acaricidal activity of petroleum ether extract of neem (*Azadirachta indica*) oil and its four fractions separated by column chromatography against *Sarcoptes scabiei var. cuniculi larvae* in vitro. *Experimental Parasitology.* 2012; 130(4): 475-477.

6- Fernández-Grandon GM, Harte SJ, Ewany J, Bray D, Stevenson PC. Additive Effect of Botanical Insecticide and Entomopathogenic Fungi on Pest Mortality and the Behavioral Response of Its Natural Enemy. *Plants.* 2020; 9(2): 173.

7- Fazeli-Nasab B, Sirousmehr A, Mirzaei N, Solimani M. Evaluation of total phenolic, flavenoeid content and antioxidant activity of Leaf and Fruit in 14 different genotypes of *Ziziphus mauritiana* L. in south of Iran. *Eco-phytochemical Journal of Medicinal Plants.* 2017; 4(4): 1-14.

8- Fooladvand Z, Fazeli-nasab B. Antibacterial activities of *Stachys lavandulifolia Vahl*. extract against eight bacteria. *Journal of Herbal Drugs (An International Journal on Medicinal Herbs).* 2014; 5(1): 13-18.

9- Francine U, Jeannette U, Pierre RJ. Assessment of antibacterial activity of neem plant (*Azadirachta indica*) on *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *J Med Plants Stud.* 2015; 3(4): 85-91.

10- Gogi MD, Syed AH, Atta B, Sufyan M, Arif MJ, Arshad M, *et al.* Efficacy of biorational insecticides against *Bemisia tabaci* (Genn.) and their selectivity for its parasitoid *Encarsia formosa* Gahan on Bt cotton. *Scientific reports.* 2021; 11(1): 1-12.

11- Grover A, Bhandari B. S, Rai N. Antimicrobial activity of medicinal plants-*Azadirachta indica* A. Juss, Allium cepa L. and Aloe vera L. *Journal of Pharm Tech Research*. 2011; 3(2): 1059-1065.

12- Hossain MA, Al-Toubi WA, Weli AM, Al-Riyami QA, Al-Sabahi JN. Identification and characterization of chemical compounds in different crude extracts from leaves of Omani neem. *Journal of Taibah University for Science.* 2013; 7(4): 181-188.

13- Jagannadh JH, Radhika M. Antimicrobial emulsion (coating) based on biopolymer containing neem (meliaazadirachata) and turmeric (curcuma longa) extract for wound healing. *Biomed Mater Eng.* 2006; 16(5): 329-36.

14- Jain D, Jayaram L, Prabhu MV, Bhat K. Antibacterial effect of neem (*Azadirachta indica*) oil on multidrug resistant bacteria isolated from human infections. *International Journal of Biological and Medical Research*. 2013; 4: 3544–3546.

15- Jerobin J, Makwana P, Suresh Kumar R, Sundaramoorthy R, Mukherjee A, Chandrasekaran N. Antibacterial activity of neem nanoemulsion and its toxicity assessment on human lymphocytes in vitro. *International journal of nanomedicine.* 2015; 10(2): 77-86.

16- Koona S, Budida S. Antimicrobial potential of the extracts of the leave of azadirachta indica linn. *Nat Sci Biol*. 2011; 3(1): 65-9.

17- Khanavi M, Hasanloo T, Hajimehdipoor H. Quantitative Determination of Azadirachtin in Melia indica and M. azedarach. *Journal of Medicinal Plants.* 2019; 18(69): 185-193.

18- Kurita N, Miyaji M, Kurane R, Takahara Y. Antifungal activity of components of essential oils. *Agricultural and Biological Chemistry.* 1981; 45(4): 945-952.

19- Maleki L, Sadeghian-Rizi T, Ghannadian M, Sanati M H, Shafizadegan S, Sadeghi-Aliabadi H. Antibacterial activity of *Azadirachta indica* leaf extracts against some pathogenic standards and clinical bacterial isolates. *Avicenna Journal of Clinical Microbiology and Infection.* 2017; 5(1): 12987-12987.

20. Mahmoud D, Hassanein N, Youssef K, Abou Zeid M. Antifungal activity of different neem leaf extracts and the nimonol against some important human pathogens. *Brazilian Journal of Microbiology.* 2011; 42: 1007-1016.

21- Mamman PH, Mshelia WP, Susbatrus SC, Sambo KW. Antibacterial effects of crude extract of Azadirachta indica against Escherichia coli, Salmonella spp and Staphylococcus aureus. *International Journal of Medicine and Medical Sciences.* 2013; 5(1): 14-18.

22- Mondall N, Mojumdar A, Chatterje S, Banerjee A, Datta J, Gupta S. Antifungal activities and chemical characterization of Neem leaf extracts on the growth of some selected fungal species in vitro culture medium. *J Appl Sci Environ Manage.* 2009; 13(1): 49-53.

23- Allan EJ, Eeswara P, Johnson S, Mordue AJ (Luntz), Morgan ED, Stuchbury T. The production of azadirachtin in-vitro tissue culture of neem, *Azadirachta indica* Pestic. *Sci*.1994; 42: 147-152.

24- Nathan SS, Kalaivani K, Murugan K. Effects of neem limonoids on the malaria vector *Anopheles stephensi* Liston (Diptera: Culicidae). *Acta tropica*. 2005; 96(1): 47-55.

25- Patil SP, Chaudhari RY, Nemade MS. *Azadirachta indica* leaves mediated green synthesis of metal oxide nanoparticles: A review. *Talanta Open.* 2022; 5: 100083.

26- Patil SM, Shirahatti PS, V B C K, Ramu R, M N N P. *Azadirachta indica* A. Juss (neem) as a contraceptive: An evidence-based review on its pharmacological efficiency. *Phytomedicine.* 2021; 88: 153596.

27- Quelemes PV, Perfeito ML, Guimarães MA, dos Santos RC, Lima DF, Nascimento C. Effect of Neem (*Azadirachta indica* A. Juss) Leaf Extract on Resistant *Staphylococcus aureus* Biofilm Formation and *Schistosoma Mansoni* Worms. *J. Ethnopharmacol*. 2015; (175): 287–294.

28- Rasool M, Malik A, Arooj M, Alam MZ, Alam Q, Awan M, *et al.* Evaluation of antimicrobial activity of ethanolic extracts of *Azadirachta indica* and *Psidium guajava* against clinically important bacteria at varying pH and temperature. *Biomed Res.* 2017; 28: 134-139.

29- Ramesh P, Okigbo R. Effects of plants and medicinal plant combinations as anti-infectives. *Afr J Pharm Pharmacol.* 2008; 2(7): 130-135

30- Santhosh V, Navaratnam V. Neem (Azadirachta indica): Prehistory to contemporary medicinal uses to humankind. *Asian Pacific J Trop Biomed.* 2013; 3(7): 505-514.

31- Sarmiento WC, Maramba CC, Gonzales MLM. An in-vitro study on the antibacterial effect of neem (*Azadirachta indica*) leaf extract on methicillin-sensitive and Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *PIDSP J*. 2011; 12(1): 40-45.

32- S L P, A U, S J G F. Investigation on the Biofilm Eradication Potential of Selected Medicinal Plants against Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Biotechnol. Rep.* 2020; 28, e00523.

33- Vestby LK, Grønseth T, Simm R, Nesse LL. Bacterial Biofilm and its Role in the Pathogenesis of Disease. *Antibiot.* 2020; 9(2).

34- Valizadeh M, Beigomi M, Fazeli-Nasab B. Antibacterial and Anti biofilm effects of ethanol and aceton leaf extract of *Momordica charantia* and *Tecomella undulata* against *Acinetobacter baumannii*. *Int J Adv Biol Biomed Res.* 2020; 8(4): 403-418.

Investigating the antimicrobial activity of *Azadirachta indica* medicinal plant prepared with different solvents on pathogenic bacteria

Habib Dahmardeh[1*], Reza Rohani[2], Zahra Beigomi[3]

1- Faculty of Veterinary Medicine, University of Zabol, Zabol, Iran.
2- Department of Neurosurgery, Amiralmomenin Hospital, Zabol University of medical sciences, Zabol, Iran.
3- Medical School, Zahedan University of Medical Sciences, Zahedan, Iran.

Receive: October 29, 2021; Revise: February 19, 2022; Accept: February 27, 2022

Summary

Azadirachta indica is known as a medicinal plant due to its antibacterial, antimalarial, antiviral and antifungal properties. The purpose of this study is to investigate the antimicrobial activity of *Azadirachta indica* medicinal plant prepared with different solvents on pathogenic bacteria. Different parts of *Azadirachta indica* medicinal plant were collected from Baluchistan-Sistan and Baluchistan region, extraction was done in dry shade and using different solvents, and the diameter of the inhibitory halo in a dilution of 100 mg/ml against Bacterial strains were investigated. The results of this study showed that the greatest effect of *Azadirachta indica* medicinal plant on *Enterococcus phicalis*, *Bacillus cereus* and *Shigella dysentery* was obtained from acetone extract and fruit tissue. Against *Escherichia coli* obtained from methanol extract and fruit tissue. Against *Pseudomonas aeruginosa* obtained from ethanol extract and fruit tissue. It was against *Listeria monocytogenes* obtained from acetone extract and leaf tissue. The results of this study showed that the leaves and fruits of *Azadirachta indica* medicinal plant with different solvents had different inhibitory effects against microbes.

Key words: *extraction solvents, Azadirachta indica plant, pathogenic bacteria, halo diameter of growth inhibition*