

ارزیابی خواص ضد میکروبی عصاره هیدروالکلی گیاه دارویی بر میکروب‌های اشریشیاکلی و استافیلوکوکوس

بهمن فاضلی نسب*^۱، محمد رهنما^۲، سعید شهریاری^۳

۱- گروه پژوهشی زراعت و اصلاح نباتات، پژوهشکده کشاورزی پژوهشگاه دانشگاه زابل، زابل، ایران.

۲- دانشیار گروه آموزشی پاتولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه زابل، زابل، ایران.

۳- کارشناس آزمایشگاه گروه آموزشی پاتولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه زابل، زابل، ایران.

دریافت مقاله: ۱۸ دی ۱۳۹۶، بازنگری: ۱۰ بهمن ۱۳۹۶، پذیرش نهایی: ۲۰ اسفند ۱۳۹۶

چکیده

هدف از تحقیق حاضر بررسی تأثیر عصاره هیدروالکلی گیاه دارویی مختلف بر باکتری‌های اشریشیاکلی و استافیلوکوکوس/اورئوس است. در این مطالعه، اثرات ضد میکروبی عصاره‌های هیدروالکلی بر باکتری‌های اشریشیاکلی و استافیلوکوکوس/اورئوس با روش انتشار در محیط کشت مولر هینتون آگار با استفاده از دیسک‌های کاغذی ۶ میلی‌متری منطبق بر دستورالعمل Kirby و Bauer و همچنین چاهک‌گذاری حاصل گردید. همچنین از آنتی‌بیوتیک‌های سیپروفلوکساسین، آمیکاسین، جنتامایسین، آزیترومایسین، تری‌متوپریم سولفامتوکسازول، سفتریاکسون، پنی‌سیلین و آمپی‌سیلین جهت کنترل مثبت استفاده شد. نتایج نشان داد که مؤثرترین عصاره هیدروالکلی گیاهان دارویی بر قطر هاله عدم رشد استافیلوکوکوس/اورئوس گیاهان مورد، آویشن شیرازی و بابونه و بر قطر هاله عدم رشد اشریشیاکلی گیاهان آویشن شیرازی، مورد و رزماری بودند. ضمناً مشخص شد که محیط بر خاصیت ضد میکروبی عصاره هیدروالکلی گیاه دارویی مورد و آویشن شیرازی تأثیر کمتری داشته، اما بابونه‌های مناطق مختلف اثرات متفاوت‌تری داشتند که نشان‌دهنده تأثیر محیط بر خاصیت ضد میکروبی آن‌ها بود. ضعیف‌ترین گیاهان در قطر هاله عدم رشد هر دو نوع باکتری مورد بررسی گیاهان آوندول، شاه‌تره، زوفاء، افسنتین، آویشن کوهی و پونه کوهی بودند. بین قابلیت ضد میکروبی عصاره‌های هیدروالکلی گیاهان دارویی در دو روش دیسک‌های کاغذی ۶ میلی‌متری و روش چاهک‌گذاری تفاوت معنی‌داری وجود داشت به طوری که قطر هاله عدم رشد هر دو نوع باکتری در روش چاهک‌گذاری بیشتر از روش دیسک کاغذی بود. با توجه به نتایج تحقیق و افزایش روزافزون مقاومت به مواد آنتی‌باکتریال سنتتیک، گیاهان مورد، آویشن، بومادران و رزماری می‌توانند به عنوان گیاهان مؤثر در پاک‌سازی برخی از باکتری‌ها از جمله اشریشیاکلی و استافیلوکوکوس/اورئوس مورد استفاده قرار گیرند.

واژگان کلیدی: آویشن، باکتری، بومادران، رزماری، مورد

مقدمه

یکی از مشکلات صنعت غذا و دارو، گسترش سویه‌های میکروبی مقاوم به داروها و آنتی‌بیوتیک‌ها بوده و امروزه به دلیل خاصیت سمی و سرطان‌زایی ترکیبات شیمیایی و سنتزی، استفاده از گیاهان دارویی جهت درمان بیماری‌های مزمن توجه بسیاری از پژوهشگران را به خود معطوف و از این رو، استفاده از ترکیبات ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی طبیعی مانند اسیدهای آلی، اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی می‌توانند جایگزین مناسب و ایمنی در مواد غذایی باشند (۱). همچنین، در بیماری‌های دهان و دندان و ورم مفاصل و استخوان که کلاژن در معرض تخریب قرار می‌گیرد، ترکیبات فنلی و مواد آنتی‌اکسیدانی این گیاهان می‌تواند از آن جلوگیری کند (۲).

ترکیبات فنلی بخشی از رژیم غذایی انسان را تشکیل داده و بزرگ‌ترین نفع رایج آن فعالیت‌های ضد سرطانی و آنتی‌اکسیدانی آن‌ها است (۳). فلاونوئیدها و دیگر ترکیبات فنلی گیاه مانند اسیدهای فنلی، استیلین، تانن‌ها، لیگنان‌ها و لیگنین‌ها معمولاً در برگ‌ها و بخش‌های چوبی مانند ساقه و شاخه وجود دارند. این ترکیبات نقش مهمی در رشد طبیعی گیاه و مقاومت در برابر عفونت و ضربه دارند (۴). تفاوت در مقادیر کمی ترکیب‌های فیتوشیمیایی از جمله ترکیب‌های فنلی و فلاونوئیدها در بین توده‌های مناطق مختلف می‌تواند ناشی از تنوع ژنتیکی یا شرایط اکولوژیکی حاکم بر رویشگاه‌ها باشد (۵). همچنین در تحقیقی دیگر (۶) بین مقادیر فنل کل، محتوای فلاونوئیدها و قابلیت آنتی‌اکسیدانی گونه پنیر باد (W. Somnifera) حاصل از رویشگاه‌های مختلف اختلاف معنی‌داری گزارش شده است.

فلاونوئیدها از جمله ترکیبات فنلی هستند که به طور مستقیم باعث مهار مولکول‌های فعال

سوپراکسید، پراکسید هیدروژن، رادیکال‌های هیدروکسیل و پراکسیل می‌گردند. گزارش شده است که گیاهان حاوی ترکیب‌های فلاونوئیدی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالایی از خود نشان می‌دهند (۶). این فعالیت آنتی‌اکسیدانی عمدتاً مربوط به توانایی این ترکیب‌ها به دادن الکترون یا اتم‌های هیدروژن بوده و به همین دلیل از نظر دارویی حائز اهمیت می‌باشند (۷). نکته قابل توجه این که بخش‌های بذر و پوست برخی میوه‌ها از فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری حتی نسبت به گوشت برخوردارند. به عنوان نمونه بذرها، انگور و پوست انار فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری نسبت به گوشت داشته و غنی از پروآنتوسیانیدین هستند که مهارکننده قوی رادیکال‌های فعال اکسیژن می‌باشند (۸).

رادیکال‌های آزاد و گونه‌های فعال اکسیژن (ROS= Reactive Oxygen Species) بخش لازمی از حیات بوده که در واکنش‌های بیولوژیک مهمی شرکت داشته و تنها زمانی مفید هستند که در زمان و مکان درستی تولید شوند (۹)، در غیر این صورت می‌توانند مضر بوده و بهترین ترکیبات سلول مانند اسیدهای چرب، پروتئین‌ها، اسیدهای نوکلئیک و رنگ‌دانه‌ها را مورد حمله قرار دهند (۱۰). برای خنثی کردن اثر سمی رادیکال‌های فعال اکسیژن، ترکیبات آنتی‌اکسیدانت نیاز است. سلول‌های گیاهی از دو سیستم آنتی‌اکسیدان آنزیمی (سوپر اکسید دیسموتاز، کاتالاز، پراکسیداز، متابولیت‌های آنتی‌اکسیدانی فنل، کارتنوئیدها) و غیر آنزیمی برای حل این معضل استفاده می‌کنند (۱۱، ۱۲).

تحقیقات نشان داده منبع دریافت فنل‌ها و فلاونوئیدها در نقاط مختلف جهان به نوع رژیم غذایی مردم منطقه وابسته است. برای مثال در کشورهای هم‌چون ژاپن و چین مصرف چای سبز

تأمین کننده این ترکیبات مورد نیاز بدن هست در حالی که این مواد در کشورهای غربی با مصرف سیب و پیاز و در کشورهای شرقی با مصرف سبزیها و مواد غذایی تخمیری تأمین می شوند (۱۳). در کشور ایران به طور جامع نوع خاص استفاده از انواع مواد حاوی آنتی اکسیدان وجود ندارد اما با تبلیغات مختلف کارهایی از جمله مصرف سبزیها به صورت خام و پخته، برگ گیاهان و درختان مختلف (به صورت دم نوش، عرقیات، اسانس، عصاره، مربا، شربت، ترشی، مواد شوینده از جمله سدر و حتی مصرف به صورت دلمه و غیره) صورت گرفته که پیرو تحقیقات مختلف، باید از اندامهای مختلف گیاهان که دارای نوع خاص مواد آنتی اکسیدانی بوده استفاده خاصی از آنها بشود.

آنتی اکسیدانهای طبیعی مرکبات و سبزیها، بازدارندهی رشد بیماریهای بالینی مهم بوده و برخی تحقیقات، رابطه بین مصرف میوهها و سبزیها با کاهش بیماریهای مزمن را تأیید نموده اند (۱۴). اگرچه میوهها و سبزیها از نظر ترکیبات آنتی اکسیدانی و فعالیت آنتی اکسیدانی متنوع هستند لیکن آنهايي که فعالیت آنتی اکسیدانی بالا دارند معمولاً حاوی آنتی اکسیدانهای بیشتری هستند (۱۵).

اسانسهای گیاهی در زمینه های دارم-اکولوژیکی، داروشناسی گیاهی، میکروبیولوژی پزشکی و کلینیکی، فیتوپاتولوژی و نگهداری مواد غذایی، میوهها و سبزیها شدیداً غربالگری شده و مورد استفاده قرار گرفته اند (۱۶). این مواد علاوه بر جلوگیری از رشد باکتریها و کپکهای آلوده کننده مواد غذایی به منظور افزایش عمر نگهداری غذاهای فرآیند شده در سیستم غذایی و نیز افزایش عمر نگهداری میوهها و سبزیها مورد استفاده قرار گرفته اند (۱۷).

استافیلوکوکوس گستره وسیعی از عفونت های

ساده پوستی تا بیماریهای تهدیدکننده زندگی (مانند پنومونی، مننژیت، استئومیلیت، اندوکاردیت، سندروم شوک سمی و سپتی سمی) را ایجاد و به عنوان یکی از پنج عامل شایع ایجادکننده عفونت های بیمارستانی به ویژه عفونت های زخم پس از جراحی است (۱۸). آلودگی سالمونلایی در انسان به صورت مسمومیت غذایی، گاستروانتریت، تب تیفوئید و گاهی اوقات سپتی سمی بروز می کند (۱۹). انتروتوکسین های تولید شده توسط برخی از باکتریها مانند *E. Coli*، *Staphylococcus aureus* و گونه های *Salmonella*، *Yersinia* و *Clostridium* باعث مسمومیت دستگاه گوارش و بروز علائم گوارشی ناشی از آن می باشند (۲۰).

تاکنون خواص ضد میکروبی برخی گیاهان بر روی باکتریهای مختلفی ارزیابی شده است. مثلاً خواص بازدارندگی و ضد میکروبی اسانس و عصاره آویشن روی اشیریشیاکلی، سودوموناس آئروژینوزا و استافیلوکوکوس اورئوس (۲۱، ۲۲)، عصاره آبی مورد بر سوبیه های پسودوموناس آئروژینوزا (۲۳)، عصاره قسمت های مختلف زعفران از جمله برگها، مادگی و کبرولا را علیه باکتریهای ای-کولای، استافیلوکوکوس، اپیدرمیس، استافیلوکوکوس اورئوس، میکروکوکوس و قارچها (۲۴، ۲۵)، عصاره رزماری بر لوکونوستوک مزانتروئیدس، لیستریا منوسایتوژنس، استافیلوکوکوس اورئوس، استرپتوکوکوس موتانس و باسیلوس (۲۶) و عصاره بومادران بر کاندیدا آلبیکنس و باسیلوس سوبتیلیس (۲۷) بررسی شده است.

با افزایش سن و در افرادی که دچار بیماریهای مشخصی هستند آنتی اکسیدانهای درونی بدن نیازمند کمک های خارجی هستند که از طریق آنتی اکسیدانهای موجود در مواد غذایی به منظور حفظ سلامت غشاهای سلولی تأمین می شوند و از آنجا که گیاهان مورد بررسی در این تحقیق استفاده

دارویی گسترده‌ای دارند لذا بهره‌مندی از خصوصیت آنتی‌اکسیدانی آنها در کنار سایر خواص آنها زمینه تحقیق ما قرار گرفت و بر این اساس هدف از تحقیق حاضر نیز ارزیابی ارتباط بین فعالیت آنتی‌اکسیدانی و خاصیت ضد میکروبی عصاره‌های هیدروالکلی گیاهان دارویی، مورد، زعفران، بومادران، آویشن شیرازی، انشک، آوندول، کلپوره همدانی و رزماری بر باکتری‌های اشریشیاکلی، لیستریا مونوسیتوزنز، سالمونلا تیفی موریوم و استافیلوکوکوس اورئوس می‌باشد.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق ۲۹ ژنوتیپ (جدول ۱) از مناطق مختلف کشور ایران جمع‌آوری و در آزمایشگاه‌های پژوهشکده زیست‌فناوری کشاورزی دانشگاه زابل مورد ارزیابی قرار گرفتند.

روش تهیه عصاره هیدروالکلی: مقدار ۱۰ گرم بافت ۲۹ گیاه دارویی مختلف (جدول ۱) در سایه و در مجاورت هوا خشک، آسیاب و سپس در ۱۰۰ سی‌سی محلول (الکل ۷۰ و آب مقطر ۳۰) خیسانده و به مدت ۴۸ ساعت در دمای اتاق و بر روی شیکر نگهداری گردید. پس از طی شدن زمان مورد نظر، عصاره‌ها صاف، سپس حلال در دمای کمتر از ۴۰ درجه سانتی‌گراد توسط دستگاه روتاری تبخیر و باقیمانده بعد از خشک شدن برای انجام آزمایش‌ها در یخچال با درجه حرارت ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (۲۸).

بررسی اثرات ضد میکروبی: در این بخش، اثرات ضد میکروبی ۲۹ نوع از عصاره‌های گیاهان دارویی مورد استفاده (جدول ۱) بر باکتری اشریشیاکلی (ATCC25922) و استافیلوکوکوس (ATCC25923) تهیه‌شده از شرکت پاتن طب با روش انتشار در محیط کشت مولر هینتون آگار

(ساخت شرکت مرک آلمان) با استفاده از دو روش دیسک‌های کاغذی ۶ میلی‌متری و روش چاهک‌گذاری بررسی (۲۹، ۳۰) و تعیین حساسیت میکروبی نیز به روش Bauer و همکاران (۳۱) انجام شد. همچنین از آنتی‌بیوتیک‌های سیپروفلوکساسین (CP)، آمیکاسین (AN)، جنتامایسین (GM)، آزیترومایسین (AZM)، تری‌متوپریم سولفامتوکسازول (SXT)، سفتریاکسون (CRO)، پنی‌سیلین (P) و آمپی‌سیلین (AM) جهت کنترل مثبت استفاده شد.

تجزیه آماری داده‌ها: بعد از جمع‌آوری داده‌ها، تجزیه واریانس توسط نرم‌افزار 9 student statistic و همچنین مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) در سطح احتمال یک درصد انجام شد.

یافته‌ها: نتایج حاصل از تجزیه واریانس قطر هاله عدم رشد نوع اعمال تیمار (دیسک‌های کاغذی و چاهک‌گذاری) عصاره هیدروالکلی گیاهان آویشن شیرازی، بابونه، بنه، بومادران، زیره سیاه، انشک، آوندول، پونه کوهی، مورد، الوک، بنه، رزماری، کلپوره همدانی، زعفران، زوفا، کاکوتی، افسنطین، آویشن وحشی، شاه‌تره و رزماری، غلظت‌های مختلف عصاره مورد استفاده و همچنین اثر متقابل نوع اعمال تیمار عصاره، عصاره گیاهان دارویی مختلف و غلظت‌های مختلف عصاره بر باکتری اشریشیاکلی و استافیلوکوکوس اورئوس معنی‌دار بود ($P < 0.01$) (جدول ۲ و ۳).

تفاوت معنی‌داری بین قابلیت ضد میکروبی عصاره‌های هیدروالکلی گیاهان دارویی در دو روش دیسک‌های کاغذی ۶ میلی‌متری و روش چاهک‌گذاری وجود داشت به طوری که قطر هاله عدم رشد هر دو نوع باکتری در روش چاهک‌گذاری بیشتر از روش دیسک کاغذی بود (شکل ۳).

جدول ۱- مشخصات گیاهان دارویی مورد استفاده

Row	Plant Name	Latin Name	Origin of Plant	effective material
1	آویشن شیرازی	<i>Zataria Multiflora</i>	جیرفت	تیمول
2	بابونه	<i>German chamomile</i>	جیرفت	آنته مین، تانن، فیتوسترول، اسید آنته میک
3	بنه	<i>Pistacia atlantica</i>	جیرفت	تربانتین، کلوفان
4	بومادران	<i>Achillea millefolium</i>	جیرفت	ماتریکارین
5	زیره سیاه	<i>Cuminum cyminum</i>	جیرفت	کارون، لیمون، دی هیدروکارون کارونول، دی هیدروکارونول
6	انشک	<i>Nectaroscordum tripe-dale</i>	ایلام	---
7	آوندول	<i>Smyrniun cordifolium Boiss</i>	ایلام	جرماکرن دی
8	آویشن وحشی	<i>Thymus vulgaris</i>	ایلام	تیمول
9	بومادران	<i>Achillea millefolium</i>	ایلام	ماتریکارین
10	پونه کوهی	<i>Mentha longifolia</i>	ایلام	تیمول
11	مورد	<i>Myrtus communis</i>	ایلام	میرتول
12	الوک	<i>Amygdalus scoparia</i>	شیراز	آمیگدالوزید، آمیلاگدالین، دیاستاز (سیناپتاز)، آلدئید بنزوئیک
13	آویشن شیرازی	<i>Zataria Multiflora</i>	شیراز	تیمول
14	بنه	<i>Pistacia atlantica</i>	شیراز	تربانتین، کلوفان
15	بومادران	<i>Achillea millefolium</i>	شیراز	ماتریکارین
16	رزماری	<i>Rosmarinus officinalis</i>	شیراز	رزمارینیک
17	مورد	<i>Myrtus communis</i>	شیراز	میرتول
18	کلپوره همدانی	<i>eucrium polium</i>	شیراز	کاریوفیلین اکساید
19	بابونه	<i>German chamomile</i>	قائن	آنته مین، تانن، فیتوسترول، اسید آنته میک
20	بومادران	<i>Achillea millefolium</i>	قائن	ماتریکارین
21	زعفران	<i>Crocus sativus</i>	قائن	کروستین
22	زوفا	<i>Hyssopus officinalis</i>	قائن	پینوکامفن، آلفا وبتاپینن، کامفن
23	کاکوتی	<i>Ziziphora persica</i>	قائن	ایزومننون
24	افسنطین	<i>Artemisia absinthium</i>	قائن	توژون
25	آویشن وحشی	<i>Thymus vulgaris</i>	کاشمر	تیمول
26	بومادران	<i>Achillea millefolium</i>	کاشمر	ماتریکارین
27	پونه کوهی	<i>Mentha longifolia</i>	کاشمر	تیمول
28	شاه‌تره	<i>Fumaria officinalis</i>	کاشمر	فومارین (پروتوپین)، فوماری لین، سیناکتین
29	کلپوره همدانی	<i>Teucrium polium</i>	کاشمر	کاریوفیلین اکساید

اشریشیاکلی بوده که نشان‌دهنده تأثیر کمتر محیط بر خاصیت ضد میکروبی عصاره هیدروالکلی گیاه دارویی مورد و آویشن بود.

ضعیف‌ترین گیاهان در قطر هاله عدم رشد هر دو نوع باکتری مورد بررسی گیاهان آوندول، شاه‌تره، زوفا، افسنطین، آویشن کوهی و پونه کوهی بودند.

در مقایسه اثر عصاره‌های گیاهی با آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده مشخص شد که عصاره مورد، بابونه و سپس آویشن شیرازی و تا

آزمون تعقیبی LSD نشان داد که مؤثرترین عصاره هیدروالکلی گیاهان دارویی بر قطر هاله عدم رشد اشریشیاکلی گیاهان آویشن (شیراز و جیرفت)، مورد (برگرفته از مناطق شیراز و ایلام) و رزماری (شیراز) بودند ضمناً از گیاهان نامبرده هر کدام چند گونه یکسانی نیز از مناطق مختلف جمع‌آوری و مورد ارزیابی قرار داده شدند که نتایج حاصله نشان داد مؤثرترین عصاره، عصاره هیدروالکلی آویشن شیرازی، مورد و سپس رزماری بر باکتری

حدودی آویشن وحشی (ایلام) نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های تری‌متوپریم سولفامتوکسازول، سیپروفلوکساسین، پنی‌سیلین، سفتریاکسون، آزیترومایسین، جنتامایسین، آمیکاسین و آمپی‌سیلین بر باکتری استافیلوکوکوس اورئوس اثر مثبت داشتند (جدول ۴). همچنین عصاره‌های گیاه دارویی آویشن شیرازی و سپس رزماری و مورد نیز نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های تری‌متوپریم سولفامتوکسازول، سیپروفلوکساسین، پنی‌سیلین، سفتریاکسون، آزیترومایسین، جنتامایسین، آمیکاسین و آمپی‌سیلین بر باکتری اش‌ریشیاکلی اثر مثبت داشتند (جدول ۴).

بحث

استفاده از آنتی‌بیوتیک‌های تجاری مشکلات مختلفی را برای حیوانات و استفاده‌کنندگان از فرآورده‌های حیوانی ایجاد می‌کند که شامل مسمومیت‌های احتمالی در اثر مصرف دارو، باقی ماندن دارو در بافت‌ها و پیدایش سویه‌های مقاوم به عوامل ضد باکتریایی است (۳۲). گیاهان از هزاران سال پیش نقش بسیار مهمی در حفظ سلامتی و بهبود کیفیت زندگی انسان‌ها داشته‌اند. گیاهان دارویی دارای خواص مفیدی هستند که از جمله می‌توان به خاصیت ضد باکتریایی، ضد انگلی، ضد قارچی و آنتی‌اکسیدانی اشاره کرد (۳۳). امروزه فرآورده‌های گیاهی به دلیل دسترسی آسان، راحتی کاربرد و اثرات جانبی کمتر در مقایسه با فرآورده‌های شیمیایی برای درمان اکثر بیماری‌های انسان و حیوانات مورد استفاده قرار می‌گیرند (۳۴). با توجه به افزایش سطح تقاضای عمومی برای استفاده از مرغ ارگانیک و عاری از آنتی‌بیوتیک در چرخه غذایی انسان، استفاده از مواد ضد میکروبی با پایه گیاهی می‌تواند در کنترل بیماری‌های طیور نقش با ارزشی ایفا نماید. در همین راستا، در مطالعه

اخیر به بررسی خواص ضد باکتریایی آویشن شیرازی، بابونه، بنه، بومادران، زیره سیاه، انشک، آوندول، بومادران، پونه کوهی، مورد، الوک، رزماری، کلپوره همدانی، بابونه، زعفران، زوفا، کاکوتی، افسنطین، آویشن کوهی، پونه کوهی و شاه‌تره بر باکتری اش‌ریشیاکلی و استافیلوکوکوس پرداخته شد. نتایج نشان داد مؤثرترین عصاره هیدروالکلی گیاهان دارویی بر قطر هاله عدم رشد / استافیلوکوکوس / اورئوس گیاهان مورد (برگرفته از مناطق شیراز و ایلام)، آویشن (شیراز و ایلام) و بابونه (قاین) و همچنین مؤثرترین عصاره هیدروالکلی گیاهان دارویی بر قطر هاله عدم رشد اش‌ریشیاکلی گیاهان آویشن (شیراز و جیرفت)، مورد (برگرفته از مناطق شیراز و ایلام) و رزماری (شیراز) بوده‌اند.

مکانیسم ضد میکروبی احتمالاً حاصل ترکیباتی مانند فلاونوئیدها و فلاونول‌ها از طریق واکنش با گروه‌های سولفیدریل یا واکنش‌های غیراختصاصی با پروتئین‌های میکروبی مانند پروتئین‌های خارج سلولی و تشکیل کمپلکس با دیواره سلولی و یا ایجاد اختلال در غشاء سلول میکروارگانیسم‌ها است (۳۵). اثرات ضد میکروبی ساختارهای فنلی در مطالعات پیشین ثابت شده است و همچنین مشاهده شده است که قدرت ضد میکروبی آنها به محل و تعداد گروه‌های هیدروکسیل روی حلقه فنلی بستگی دارد (۳۶).

اعتقاد بر این است که اکثر اسانس‌ها و عصاره‌ها فعالیت‌های ضد میکروبی خود را از طریق تعامل با فرآیندهای مرتبط با غشاء سلولی باکتری‌ها، از جمله انتقال الکترون، شیب یونی، جابجایی پروتئین، فسفوریلاسیون و سایر واکنش‌های وابسته به آنزیم، اعمال می‌کنند (۳۷). هر چند نیز گزارش شده که اثر مهاری بر پمپ ATPase و جلوگیری از سنتز تاژک در باکتری‌های گرم منفی مانند اش‌ریشیاکلی را به برخی از ترکیبات فنلی نسبت داده‌اند (۳۸).

باکتری‌های گرم مثبت نشان داده است. این مسئله که در برخی تحقیقات، باکتری‌های گرم مثبت به عنوان گونه‌های حساس تر شناخته می‌شوند و در برخی دیگر خلاف این موضوع اثبات می‌شود، می‌تواند ناشی از ویژگی‌های فردی و سویه‌ای باکتری‌ها باشد. ضمناً نوع حلال هم در خاصیت ضد باکتریایی عصاره تهیه شده می‌تواند نقش بسیار مهمی داشته باشد (۴۱). به طوری که در تحقیق دیگری گزارش شده که عصاره‌های کلروفرمی و اتیل استاتی اثر ضد باکتریایی بیشتری نسبت به عصاره‌ی متانلی از خود نشان دادند (۴۲). اما در تحقیق دیگر (۴۳) نیز گزارش شده که عصاره‌های آبی (۲/۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) و اتانولی (۳ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) حنا تأثیر یکسانی بر باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* داشته‌اند اما عصاره اتانولی (۳/۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) نسبت به عصاره آبی (۱۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) تأثیر بیشتری بر باکتری *سودوموناس* داشته است.

حضور اسیدهای فنولیک مانند اسید رزمارینیک و کلروژنیک را در عصاره رزماری از عوامل مؤثر بر باکتری‌های گرم منفی می‌دانند. از آنجا که حلالیت این ترکیبات در حلال‌های آلی بسیار بیشتر از آب است (۳۹) لذا تأثیر بالای عصاره رزماری بر باکتری اشریشیاکلی می‌تواند به دلیل حضور بیشتر این ترکیبات فعال در عصاره هیدروالکلی باشد.

در مطالعات مختلف نشان داده شده که دیواره سلولی باکتری‌های گرم مثبت شامل یک لایه پپتیدوگلیکان است که ساختار ساده‌تری نسبت به باکتری‌های گرم منفی دارد و در نتیجه در مقابل بسیاری از آنتی‌بیوتیک‌ها و ترکیبات شیمیایی ضد میکروبی حساسیت بیشتری دارند (۴۰). در تحقیق حاضر نیز مشخص شد که به‌طور میانگین عصاره‌ها بر باکتری گرم مثبت (*استافیلوکوکوس*) نسبت به باکتری گرم منفی (*اشریشیاکلی*) مؤثر بودند اما برخلاف این موضوع برخی از عصاره‌های تهیه شده در این تحقیق (آویشن شیرازی) روی باکتری گرم منفی اشریشیاکلی فعالیت بهتری را نسبت به

جدول ۲- تجزیه واریانس عصاره گیاهی، میزان و نوع اعمال عصاره بر قطر هاله عدم رشد/اشریشیاکلی

F	میانگین مربعات	مجموع مربعات	درجه آزادی	منابع تغییر
۳۷۹۵۵/۷۶ **	۲۰/۰۲۴۹	۲۰/۰۲	۱	نوع اعمال تیمار (K)
۲۱۱۱۸/۸۱ **	۱۱/۱۴۲	۳۱۱/۹۸	۲۸	عصاره گیاهی (P)
۱۵۱۶۸۳/۱ **	۸۰/۰۲۵۹	۱۶۰/۰۵	۲	غلظت عصاره (L)
۸۸۹۱/۵۲ **	۴/۶۹۱	۱۳۱/۳۵	۲۸	K × P
۱۰۱۲۷/۴۸ **	۵/۳۴۳۱	۱۰/۶۹	۲	K × L
۹۴۷۷/۵۵ **	۵/۰۰۰۲	۲۸۰/۰۱	۵۶	P × L
۹۰۱۹/۴۵ **	۴/۷۵۸۵	۲۶۶/۴۸	۵۶	K × P × L
	۰/۰۰۰۵	۰/۱۸	۳۴۸	خطا
		۱۱۸۰/۷۶	۵۲۱	کل

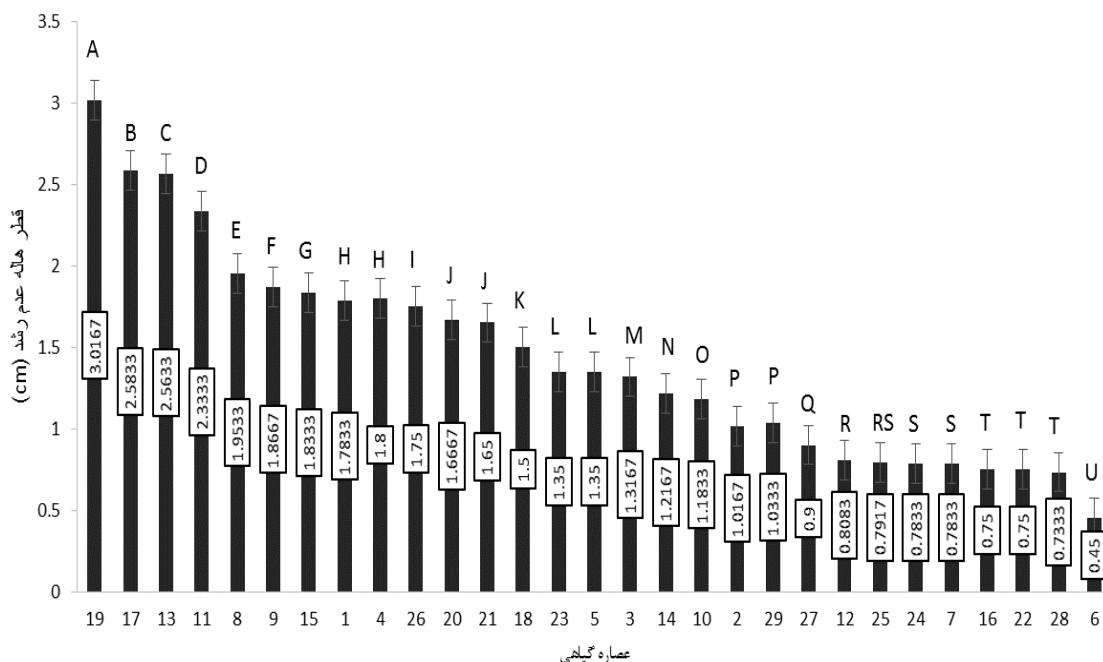
جدول ۳- تجزیه واریانس عصاره گیاهی، میزان و نوع اعمال عصاره بر قطر هاله عدم رشد/استافیلوکوکوس اورئوس

F	میانگین مربعات	مجموع مربعات	درجه آزادی	منابع تغییر
۲۱۲۴۵/۰۶ **	۱۵/۹۳۴	۱۵/۹۳۴	۱	نوع اعمال تیمار (K)
۱۰۱۰۶/۳ **	۷/۵۸	۲۱۲/۲۳۲	۲۸	عصاره گیاهی (P)
۱۴۷۷۲۸/۵ **	۱۱۰/۷۹۶	۲۲۱/۵۹۳	۲	غلظت عصاره (L)
۳۰۸۵/۶۵ **	۲/۳۱۴	۶۴/۷۹۹	۲۸	K × P
۲۹۶۲/۹۹ **	۲/۲۲۲	۴/۴۴۴	۲	K × L
۴۲۴۷/۷۹ **	۳/۱۸۶	۱۷۸/۴۰۷	۵۶	P × L
۳۲۴۰/۳۷ **	۲/۴۳	۱۳۶/۰۹۶	۵۶	K × P × L
	۰/۰۰۱	۰/۲۶۱	۳۴۸	خطا
		۸۳۳/۷۶۶	۵۲۱	کل

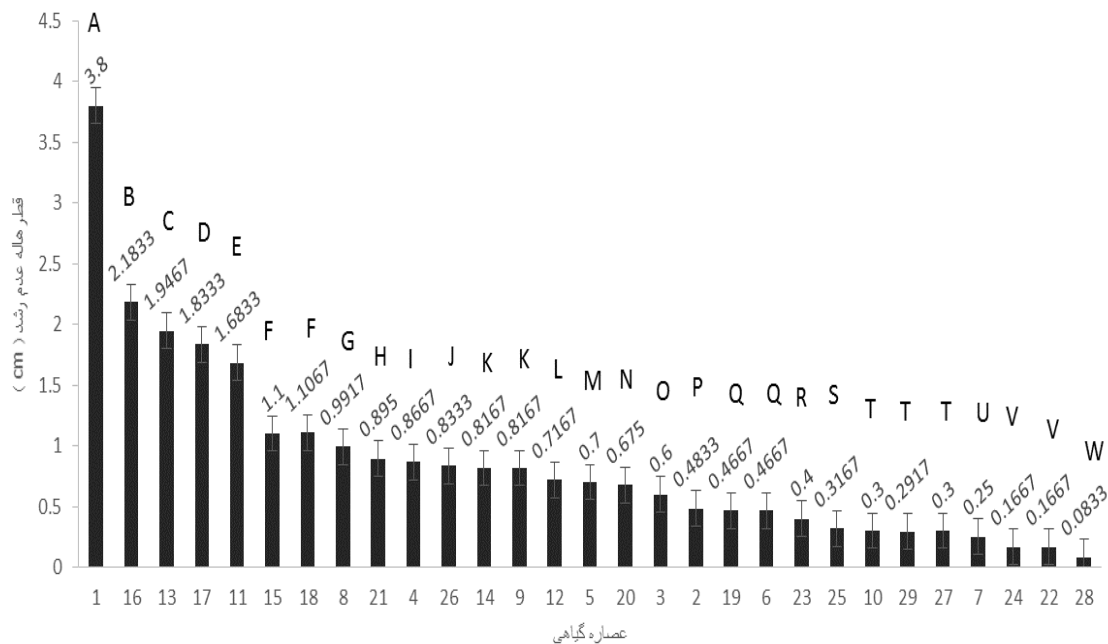
اشریشیاکلی، استافیلوکوکوس اورئوس، سودوموناس آئروژینوزا، شیگلا فلکسنری، باسیلوس سرئوس، سالمونلا تیفی موریوم، باسیلوس سوبتیلیس و انتروکوک فکالیس به روش انتشار از دیسک با استفاده از اندازه‌گیری قطر هاله مهارى و تعیین حداقل غلظت مهارى توسط روش میکروبراث دایلوژن مورد ارزیابی قرار گرفته و مشخص شده است که بزرگ‌ترین هاله عدم رشد مربوط به باسیلوس سرئوس با قطر ۴۴ میلی‌متر و بعد از آن بیشترین قطر هاله عدم رشد به ترتیب مربوط به باسیلوس سوبتیلیس، استافیلوکوکوس اورئوس، شیگلا فلکسنری و اشریشیاکلی بوده است و برای انتروکوکوس فکالیس، سودوموناس آئروژینوزا و سالمونلا تیفی موریوم کمترین قطر هاله عدم رشد مشاهده شده است.

در تحقیقی (۴۴) اثر ضد میکروبی عصاره‌ی آبی و اتانولی گیاه ترشک به روش انتشار دیسک بر روی ۸ باکتری و ۲ نوع قارچ بررسی شده و اثر آنتی‌اکسیدانی با روش‌های توان احیای آهن و فسفومولیدنیوم به همراه تعیین مقدار فنل تام نیز صورت گرفته است. نتایج نشان داده که بیشترین اثر به ترتیب بر روی اشریشیاکلی، سودوموناس آئروژینوزا، اسپرژیلوس نایجر و کمترین اثر بر روی انتروکوکوس فکالیس بوده، از طرفی نیز هیچ‌کدام از عصاره‌ها بر روی رشد پروتئوس اثری نشان ندادند. در تحقیق انجام شده مشخص شده که عصاره اتانولی دارای بیشترین فعالیت ضد میکروبی بوده، درحالی‌که اثر ضد میکروبی عصاره آبی در حد بسیار ضعیفی بوده و همچنین بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی نیز نشان داده که عصاره اتانولی اثر قوی‌تری نسبت به عصاره آبی دارد.

در تحقیقی (۴۵) از اسانس پودر دانه زیره سبز برای بررسی عملکرد ضد باکتریایی باکتری‌های



شکل ۱- ارزیابی عصاره هیدروالکلی گیاهان دارویی مختلف بر قطر هاله عدم رشد استافیلوکوکوس اورئوس (حروف مشترک نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار بین گیاهان دارویی مختلف است)



شکل ۲- ارزیابی عصاره هیدروالکلی گیاهان دارویی مختلف بر قطر هاله عدم رشد/شریشیالکی (حروف مشترک نشان دهنده عدم اختلاف معنی دار بین گیاهان دارویی مختلف است)

استافیلوکوکوس اورئوس باشد و بعد عصاره آویشن و رزماری جزو مؤثرترین عصاره‌ها بر باکتری اشیشیالکی باشند.

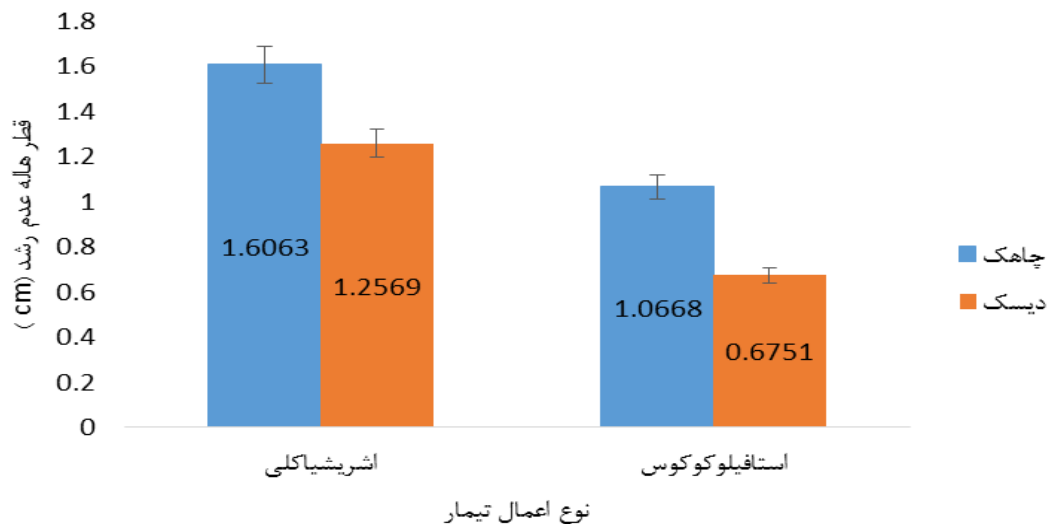
در تحقیقاتی اثر ضد میکروبی عصاره آبی گلبرگ (۵۰) و کلاله (۵۱) زعفران را بر برخی از باکتری‌های بیماری‌زای غذایی مورد بررسی قرار داده و متوجه شدند که عصاره آبی گلبرگ زعفران بر باکتری سالمونلا تیفی‌موریوم مؤثر اما بر استافیلوکوکوس اورئوس، باسیلوس سوبتلیس و اشیشیالکی کم اثر اما عصاره کلاله بر اشیشیالکی و استافیلوکوکوس اورئوس مؤثر بوده است. در تحقیق حاضر نیز عصاره هیدروالکلی گلبرگ زعفران بر اشیشیالکی مؤثر بوده اما با افزایش غلظت عصاره تأثیر معنی‌داری بر اشیشیالکی نداشته، ضمناً عصاره هیدروالکلی زعفران تا سطح ۶۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بر باکتری استافیلوکوکوس اورئوس تأثیر نداشته اما با افزایش غلظت عصاره تأثیر آن بر این سویه باکتری بیشتر شده اما در کل عصاره زعفران نسبت به سایر گیاهان مورد مطالعه در این تحقیق

بررسی نتایج MIC و MBC نشان داد که اسانس زیره سبز بیشترین اثر مهارکنندگی و کشندگی را بر روی اشیشیالکی دارد. گزارش شده که عصاره اتانولی مورد بر استافیلوکوکوس اورئوس تأثیر مثبت داشته (۴۶، ۴۷) ولی روغن مورد تأثیر بیشتری نشان داده است (۴۶). از طرفی تأثیر بیشتر عصاره هیدروالکلی نسبت به عصاره اتانولی برگ و شاخه گیاه مورد بر باکتری‌های لیستریا مونوسایتوزنز، سودوموناس آئروژینوزا و استافیلوکوکوس اورئوس و همچنین تأثیر بیشتر عصاره مورد بر باکتری‌های گرم مثبت بوده است (۴۸). در مطالعه‌ای دیگر (۴۹) مشخص شده که اگر چه عصاره هیدروالکلی گیاه مورد تأثیری در فعالیت انتشار نفوذی اشیشیالکی نشان نداده اما حداقل غلظت کشنده برای اشیشیالکی بالای ۴۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر گزارش داده‌اند و در تحقیقات دیگر نیز از عدم تأثیر عصاره مورد بر اشیشیالکی حکایت داشته‌اند (۴۶، ۴۸). در تحقیق حاضر مشخص شد که عصاره برگ مورد توانسته مؤثرترین عصاره بر باکتری

اثر متوسطی بر باکتری‌های استافیلوکوکوس و اش‌ریشیاکلی داشته است.

جدول ۴- مقایسه میانگین قطر هاله عدم رشد عصاره‌ها و آنتی بیوتیک‌های مختلف بر باکتری اش‌ریشیاکلی و استافیلوکوکوس اورئوس (حروف مشترک نشان‌دهنده‌ی عدم اختلاف معنی‌دار بین عصاره گیاهان دارویی مختلف و آنتی بیوتیک‌ها است)

استافیلوکوکوس		اش‌ریشیاکلی	
آنتی بیوتیک و عصاره‌های گیاهی	میانگین قطر هاله عدم رشد	آنتی بیوتیک و عصاره‌های گیاهی	میانگین قطر هاله عدم رشد
SXT	۳/۱ a	CP	۲/۸۱ a
۱۹	۳/۰۱۶۷ a	۱	۲/۶۶ a
CP	۲/۹۸ ab	AN	۲/۵ ab
P	۲/۶۱ abc	GM	۲/۴۹ ab
۱۷	۲/۵۸۳۳ abc	AZM	۲/۳ abc
۱۳	۲/۵۶۳۳ abc	SXT	۲/۳ abc
CRO	۲/۵۱ abcd	۱۳	۲/۲۰۱ abc
۱۱	۲/۳۳۳۳ abcde	۱۶	۲/۱۸۳۳ abc
AZM	۲/۱۳ abcdef	CRO	۲/۱ abcd
GM	۲/۱۲ bcdef	۸	۱/۹۹۲۱ abcd
AN	۲ cdefg	۱۷	۱/۷۸۳۳ abcde
۸	۱/۹۵۳۳ cdefg	۱۱	۱/۷۳۳۳ abcde
۹	۱/۸۶۶۷ cdefg	P	۱/۴۹ abcdef
۱۵	۱/۸۳۳۳ cdefg	۱۸	۱/۱۰۶۷ bedef
۴	۱/۸ cdefg	۱۵	۰/۹۹۴۲ cdef
۱	۱/۷۸۳۳ cdefg	۹	۰/۹۴۱۷ cdef
۲۶	۱/۷۵ defg	۴	۰/۹۲۱۶ cdef
۲۰	۱/۶۶۶۷ defgh	۲۶	۰/۹۰۹۲ cdef
۲۱	۱/۶۵ efgh	۲۱	۰/۸۹۵ cdef
AM	۱/۵ efghi	۱۴	۰/۷۶۶۷ def
۱۸	۱/۵ fghi	۳	۰/۷۱۹۲ def
۲۳	۱/۳۵ fghi	۱۲	۰/۷۱۶۷ def
۵	۱/۳۵ fghi	۵	۰/۷ def
۳	۱/۳۱۶۷ fghi	۲۰	۰/۶۷۵ ef
۱۴	۱/۲۱۶۷ ghi	۲	۰/۵۲۴۷ f
۱۰	۱/۱۸۳۳ ghi	۱۹	۰/۴۹۴۴ f
۲۹	۱/۰۳۳۳ hij	۶	۰/۴۶۶۷ f
۲	۱/۰۱۶ hij	۲۳	۰/۴ f
۲۷	۰/۹ ij	۲۵	۰/۳۱۶۷ f
۱۲	۰/۸۰۸۳ ij	۲۷	۰/۳ f
۲۵	۰/۷۹۱ ij	۱۰	۰/۳ f
۷	۰/۷۸۳۳ ij	۲۹	۰/۲۹۱۷ f
۲۴	۰/۷۸۳۳ ij	۷	۰/۲۵ f
۲۲	۰/۷۵ ij	۲۴	۰/۱۶۶۷ f
۱۶	۰/۷۵ ij	۲۲	۰/۱۶۶۷ f
۲۸	۰/۷۳۳۳ ij	۲۸	۰/۰۸۳۳ f
۶	۰/۴۵ j	AM	۰/۰ f



شکل ۳- قطر هاله عدم رشد باکتری‌های اشریشیاکلی و استافیلوکوکوس در دو روش دیسک‌های کاغذی و چاهک‌گذاری

در تحقیق حاضر مشخص شد که مؤثرترین غلظت عصاره برگ رزماری بر باکتری استافیلوکوکوس اورئوس غلظت ۱۲۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بوده است

در گزارشی (۵۵) عصاره متانلی گل و برگ بومادران بر استافیلوکوکوس اورئوس، باسیلوس سرئوس، سودوموناس آئروژینوزا و اشریشیاکلی بررسی شد و مشخص گردید که بیشترین اثر حاصل عصاره گل بر باکتری استافیلوکوکوس اورئوس و کمترین اثر بر اشریشیاکلی بود هر چند سودوموناس هیچ حساسیتی به عصاره از خودش نشان نداد.

است (۵۶)، اما در تحقیقی دیگر (۵۶) اثر اسانس‌های پونه کوهی و جوز هندی بر رشد و بقاء استافیلوکوکوس اورئوس در جوجه کباب آماده پخت مورد بررسی قرار گرفت و به این نتیجه رسیدند که اسانس پونه کوهی مؤثرتر از جوز هندی بوده است. در تحقیق حاضر عصاره پونه کوهی از لحاظ خاصیت آنتی‌اکسیدانی دارای سطح پایینی بوده است.

در کل با توجه به این که فنل‌ها و ترکیبات پلی‌فنلی مانند فلاونوئیدها به‌طور گسترده در محصولات غذایی و دارویی یافت شده و نشان داده

اثرات مثبت اسانس رزماری (۵۴-۵۲) بر باکتری‌های گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس و باسیلوس سرئوس گزارش شده است. در تحقیق حاضر نیز عصاره رزماری جزو مؤثرترین عصاره‌ها بر اشریشیاکلی اما جزو کم اثرترین عصاره‌ها بر باکتری استافیلوکوکوس اورئوس بوده و تا سطح ۶۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر نیز بر استافیلوکوکوس هیچ اثری نداشته است. گزارش شده (۳۴) با افزایش غلظت عصاره رزماری تأثیر آن بر باکتری لیستریا مونوسیتوژنز بیشتر شده ولی این افزایش به بیش از ۹۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر تأثیری نداشته است، اما در تحقیق حاضر نیز مشخص شد که عصاره اتانلی بومادران بر باکتری استافیلوکوکوس نسبت به اشریشیاکلی مؤثرتر بود و حتی از لحاظ هاله عدم رشد بر هر دو نوع باکتری به‌خصوص استافیلوکوکوس نسبت به سایر گیاهان در حد بالایی بوده اما نسبت به آویشن شیرازی و مورد کمتر بود.

گزارش شده که اسانس پونه کوهی بر روی باکتری‌های فسادزا در گوشت (لیستریا مونوسیتوژنز، اشریشیاکلی و یرسینیا آنتروکولیتیکا) مؤثر نبوده

نتایج تحقیق نشان داد که مؤثرترین عصاره هیدروالکلی گیاهان دارویی بر قطر هاله عدم رشد *استافیلوکوکوس اورئوس* گیاهان مورد (برگرفته از مناطق شیراز و ایلام)، *آویشن وحشی* و *شیرازی* (شیراز و ایلام) و *بابونه* (قاین) و همچنین مؤثرترین عصاره هیدروالکلی گیاهان دارویی بر قطر هاله عدم رشد *شریشیاکلی* گیاهان *آویشن* (شیراز و جیرفت)، مورد (برگرفته از مناطق شیراز و ایلام) و *رزماری* (شیراز) بودند.

شده است که فعالیت آنتی‌اکسیدانی چشمگیری دارند (۵۷) و از طرفی افزایش سطح فلاونوئیدها در رژیم غذایی منجر به کاهش برخی بیماری‌ها در انسان می‌شود (۵۸) و با در نظر گرفتن اثرات منفی آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی و نیز با توجه به نتایج حاصل از این تحقیق می‌توان عصاره مورد، *آویشن* شیرازی، بومادران و *سپس رزماری* را به عنوان *جانشینی* برای آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی پیشنهاد نمود.

نتیجه‌گیری

Reference

1. Negi PS. Plant extracts for the control of bacterial growth: Efficacy, stability and safety issues for food application. *International Journal of Food Microbiology*. 2012; 156(1):7-17.
2. Kwok CY, Wong CNY, Yau MYC, Yu PHF, Au ALS, Poon CCW, et al. Consumption of dried fruit of *Crataegus pinnatifida* (hawthorn) suppresses high-cholesterol diet-induced hypercholesterolemia in rats. *Journal of functional foods*. 2010; 2(3):179-86.
3. Dai J, Mumper RJ. Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules*. 2010; 15(10):7313-52.
4. Mozdastan S, Ebrahimzadeh MA, Khalili M. Comparing the Impact of Different Extraction Methods on Antioxidant Activities of Myrtle (*Myrtus communis* L.). *Journal of Mazandaran University of Medical Sciences*. 2015; 25(127):10-24 [Farsi].
5. Valizadeh J, Bagheri A, Valizadeh J, Mirjalili MH. Phytochemical Investigation of *Withania Coagulans* (Stocks) Dunal In Natural Habits Of Sistan and Balochestan Province Of Iran. *Iranian Journal Of Medical and Aromatics Plants*. 2015; 31(3):406-17.
6. Sharma R, Samant S, Sharma P, Devi S. Evaluation of antioxidant activities of *Withania somnifera* leaves growing in natural habitats of North-west Himalaya, India. *Journal of Medicinal Plants Research*. 2012; 6(5):657-61.
7. Shrivastava A, Roy S. *Cucurbitaceae*: A ethnomedicinally important vegetable family. *Journal of Medicinal Plants Studies*. 2013; 1(4):16-20.
8. Bagchi D, Bagchi M, Stohs SJ, Das DK, Ray SD, Kuszynski CA, et al. Free radicals and grape seed proanthocyanidin extract: importance in human

health and disease prevention. *Toxicology*. 2000; 148(2):187-97.

9. Khalili M, Ebrahimzadeh MA. A review on antioxidants and some of their common evaluation methods. *J Mazandaran Univ Med Sci*. 2015; 24(120):188-208.

10. Jafari R, Manochehri Kalantari K, Ahmadi Mousavi A. Effect of paclobutrazol on accumulation of antioxidants in tomato seedlings under cold stress. *Iranian Journal of Biology*. 2007;20:206-16 (In Persian).

11. Chen Y, Zhang M, Chen T, Zhang Y, An L. The relationship between seasonal changes in anti-oxidative system and freezing tolerance in the leaves of evergreen woody plants of *Sabina*. *South African Journal of Botany*. 2006; 72(2):272-9.

12. Mollá S, Villar-Salvador P, García-Fayos P, Rubira JLP. Physiological and transplanting performance of *Quercus ilex* L. (holm oak) seedlings grown in nurseries with different winter conditions. *Forest ecology and management*. 2006; 237(1):218-26.

13. Wach A, Pyrzyńska K, Biesaga M. Quercetin content in some food and herbal samples. *Food chemistry*. 2007; 100(2):699-704.

14. Calabro M, Galtieri V, Cutroneo P, Tommasini S, Ficarra P, Ficarra R. Study of the extraction procedure by experimental design and validation of a LC method for determination of flavonoids in Citrus bergamia juice. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2004; 35(2):349-63.

15. Guo C, Yang J. Progress in the study of antioxidant capacity of fruits and vegetables. *China public health*. 2001; 17:87-8.

16. 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):13-8.

17. **Burt S.** Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods (a review). *International Journal of Food Microbiology*. 2004; 94(3):223-53.
18. **Holley RA, Patel D.** Improvement in shelf-life and safety of perishable foods by plant essential oils and smoke antimicrobials. *Food Microbiology*. 2005; 22(4):273-92.
19. **Shapoori R, Rahnema M, Eghbal-Zadeh S.** Study of Salmonella serotypes in chicken meat and egg, and determine the antibiotic susceptibility in Zanjan. *Journal of Biological Science*. 2009; 2(3):63-71.
20. **Kotze M, Eloff J, Houghton P.** Extraction of antibacterial compounds from *Combretum microphyllum* (Combretaceae). *South African Journal of Botany*. 2002; 68(1):62-7.
21. **Najjafi-moemen R.** To investigate the antimicrobial activity of four medicinal plants of the bacterium *E. coli* colibacillosis poultry. *Journal of Agriculture and Natural Resources Research Center in Qom*. *Journal of Agriculture and Natural Resources Research Center in Qom*. 2004; 2:1-15.
22. **Sanglic O.** Sensitivity of four pathogenic bacteria to Turkish thyme and oregano. *Wissenschaft Und Technologic*. 2003; 36(5):467-73.
23. **Al-saimary LE, Bakr SS, Jaffar T, Al-saimary AE, Al-Muosawi R.** Effect of some plant extracts and antibiotics on *Pseudo minas aeruginosa* isolated from various burn cases. *Saudi medical journal*. 2002; 23(7):802-5.
24. **Vahidi H, Kamalinejad M, Sedaghati N.** Antimicrobial properties of *Crocus sativus* L. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*. 2010; 1:33-5.
25. **Tayel AA, El Tras WF.** Possibility of fighting food borne bacteria by egyptian folk medicinal herbs and spices extracts. *J Egypt Public Health Assoc*. 2009; 84(1-2):21-32.
26. **Larrán S, Ringuet JA, Carranza MR, Henning CP, Ré MS, Cerimele EL, et al.** In vitro fungistatic effect of essential oils against *Ascosphaera apis*. *Journal of essential oil research*. 2001;13(2):122-4.
27. **Sokmen A, Sokmen M, Daferera D, Polissiou M, Candan F, Ünlü M, et al.** The in vitro antioxidant and antimicrobial activities of the essential oil and methanol extracts of *Achillea biebersteini* Afan.(Asteraceae). *Phytotherapy research*. 2004; 18(6):451-6.
28. **Ebrahimzadeh MA, Hosseinimehr SJ, Hamidinia A, Jafari M.** Antioxidant and free radical scavenging activity of *Feijoa sellowiana* fruits peel and leaves. *Pharmacology online*. 2008; 1:7-14.
29. **Abubakar LA, Mwangi CM, Uku JU, Ndirangu SN.** Antimicrobial activity of various extracts of the sea urchin, *Tripneustes gratilla*, (Echinoidea). *African Journal of Pharmacology and Therapeutics*. 2012; 1(1):19-23.
30. **Sharma A, Sharma K.** Should Solubility and Zone of Inhibition Be the Only Criteria for Selection of Solvent in Antimicrobial Assay? *Advances in Biological Research*. 2011; 5:241-7.
31. **Bauer A, Kirby W, Sherris JC, Turck M.** Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *American journal of clinical pathology*. 1966; 45(4):493-6.
32. **Javed M, Durrani F, Hafeez A, Khan R, Ahmad I.** Extract of plant mixture on carcass quality of broiler chicks. *Arpn J Agric Biol Sci*. 2006; 1:115-21.
33. **Stickel F, Schuppan D.** Herbal medicine in the treatment of liver diseases. *Digestive and liver disease*. 2007; 39(4):293-304.
34. **Fazeli-Nasab B, Rahnema M, Mazarei A.** Correlation between Antioxidant Activity and Antibacterial Activity of Nine Medicinal Plant Extracts. *J Mazandaran Univ Med Sci* 2017; 27(149):63-78 (Farsi).
35. **Tsuchiya H, Sato M, Miyazaki T, Fujiwara S, Tanigaki S, Ohyama M, et al.** Comparative study on the antibacterial activity of phytochemical flavanones against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of ethnopharmacology*. 1996; 50(1):27-34.
36. **Shan B, Cai Y-Z, Brooks JD, Corke H.** Antibacterial properties and major bioactive components of cinnamon stick (*Cinnamomum burmannii*): activity against foodborne pathogenic bacteria. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2007; 55(14):5484-90.
37. **Dorman H, Deans S.** Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of applied microbiology*. 2000; 88(2):308-16.
38. **Kazem Alvandi R, A. S, M. AM.** Study of chemical composition and antimicrobial activity of peppermint essential oil. *Comparative Pathobiology*. 2010; 7(4):355-64.
39. **Barnes J, Anderson LA, Phillipson JD, Newall CA.** *Herbal medicines: Pharmaceutical Press London*; 2007.
40. **McDonnell G, Russell AD.** Antiseptics and disinfectants: activity, action, and resistance. *Clinical microbiology reviews*. 2001; 14(1):227.
41. **Abdollah Asilian H, Kamrani E, Yousef Zadi M, Keshavarz M.** Antibacterial Effect of extraction of sea cucumber extracts *Echinometra mathaei*. *Journal of Aquatic Ecology*. 2015; 5(3):139-44.
42. **Shakouri A, Jvanmar kami Ghazi Mahale O, Soheili F.** Antibacterial activity of organs extracted from sea cucumber (*Echinometra mathaei*) in Chabahar beach. *Marine biology journal*. 2015; 6(25):73-82.
43. **Behdani M, Ghazvini K, Mohammadzadeh A, Sadeghian A.** Antibacterial activity of Henna extracts against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. *The Horizon*

of Medical Sciences. 2009; 15(2):46-51.

44. 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. Journal of Fasa University of Medical Sciences/Majallah-i Danishgah-i Ulum-i Pizishki-i Fasa. 2015; 4(4).

45. Daneshmandi S, Soleimani N, Pourfathollah AA, Sattari M. Evaluation of the drug synergistic and antibacterial effects of *cuminum cyminum* essential oil. Arak Medical University Journal. 2010; 13(2):75-82.

46. Salvagnini LE, Oliveira JRS, Santos LE, Moreira RRD, Pietro RCL. Evaluation of the antibacterial activity of *Myrtus communis* L.(Myrtaceae) leaves. Revista Brasileira de Farmacognosia. 2008; 18(2):241-4.

47. Alem G, Mekonnen Y, Tiruneh M, Mulu A. In vitro antibacterial activity of crude preparation of myrtle (*Myrtus communis*) on common human pathogens. Ethiopian medical journal. 2008; 46(1):63-9.

48. Amensour M, Bouhdid S, Fernandez-Lopez J, Idaomar M, Senhaji NS, Abrini J. Antibacterial activity of extracts of *Myrtus communis* against food-borne pathogenic and spoilage bacteria. International Journal of Food Properties. 2010; 13(6):1215-24.

49. Ghasemi Pirbalouti A, Jahanbazi P, Enteshari S, Malekpoor F, Hamed B. Antimicrobial activity of some Iranian medicinal plants. Archives of Biological Sciences. 2010; 62(3):633-41.

50. Gandomi Nasrabadi H, Azami Sarokelaei L, Misaghi A, Abbaszadeh S, Shariatifar N, Tayyar Hashtjin N. Antibacterial effect of aqueous

and alcoholic extracts from petal of saffron (*Crocus sativus* L.) on some foodborne bacterial pathogens. Journal of Medicinal Plants. 2012; 2(42):189-96.

51. Razzaghi R, Nourbakhsh R, Hemmati Kakhaki A, Saberi Najafi M. Antimicrobial effect of saffron. 3rd national congress on saffron, Iran [Farsi]. 2003.

52. Tsai P-J, Tsai T-H, Ho S-C. In vitro inhibitory effects of rosemary extracts on growth and glucosyltransferase activity of *Streptococcus sobrinus*. Food chemistry. 2007; 105(1):311-6.

53. Seydim A, Sarikus G. Antimicrobial activity of whey protein based edible films incorporated with oregano, rosemary and garlic essential oils. Food research international. 2006; 39(5):639-44.

54. Fu Y, Zu Y, Chen L, Shi X, Wang Z, Sun S, et al. Antimicrobial activity of clove and rosemary essential oils alone and in combination. Phytotherapy research. 2007; 21(10):989-94.

55. Nemeth E, Bernath J. Biological activities of yarrow species (*Achillea spp.*). Current pharmaceutical design. 2008; 14(29):3151-67.

56. Firouzi R, Shekarforoush SS, Malekzadeh M. Effect of essential oils of oregano and nutmeg on growth and survival of *Staphylococcus aureus* in barbecued chicken. JFST. 2011; 32(2):35-41.

57. Van Acker SA, Tromp MN, Griffioen DH, Van Bennekom WP, Van Der Vijgh WJ, Bast A. Structural aspects of antioxidant activity of flavonoids. Free Radical Biology and Medicine. 1996; 20(3):331-42.

58. Fazli R, Nazarnezhad N, Ebrahimzadeh MA. Evaluation of phenols and flavonoids and antioxidant activity of the bark of beech, hornbeam, and pine. Journal of the forest and wood products. 2013; 66(3):339-42.

The Antimicrobial Properties of Hydro-Alcoholic Extracts of 29 Medicinal Plants on *E. coli* and *Staphylococcus aureus* Microbes

Bahman Fazeli-Nasab*¹, Mohammad Rahnama², Saeed Shahriari³

1- Lecturer, Research Dept. Of Agronomy and Plant Breeding, Agricultural Research Institute, University of Zabol, Zabol, Iran.

2- Associate prof., Dep. Of pathology, Veterinary campus, University of Zabol, Zabol, Iran.

3- Lecturer, Dept. Of pathology, Veterinary campus, University of Zabol, Zabol, Iran.

Receive: January 08, 2018; Revise: January 30, 2018; Accept: March 11, 2018

Summary

The aim of this study was evaluation of 29 hydro-alcoholic extracts of different medicinal plants on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. In this study, the antimicrobial effects of hydro-alcoholic extracts were obtained on the bacteria *E. Coli* and *Staphylococcus aureus* in a culture medium Mueller-Hinton agar diffusion method using 6 mm paper discs method in accordance with the instructions of Bauer and Kirby and Mark wells method. The antibiotics ciprofloxacin, amikacin, gentamicin, azithromycin, trimethoprim-sulfa methoxazole, ceftriaxone, penicillin and ampicillin were used as positive control. The results showed that the most effective hydro-alcoholic extracts of medicinal plants on the diameter of inhibition zone of *Staphylococcus aureus* were *Thyme*, *Myrtus* and *Chamomile*, and on the diameter of the inhibition zone of *E. coli* were *Thyme*, *Myrtus* and *Rosemary*. In addition, it was found that the environmental impact was less effective on the antimicrobial activity of hydro-alcoholic extracts of medicinal plants like *Myrtus* and *Thyme* but it was more effective on *chamomile*. The weakest plants affecting the diameter of the inhibition zone of both types of bacteria studied were *Smyrnum*, *Fumaria officinalis*, *hyssop*, *wormwood*, *thyme* and *oregano*. There was significant difference between anti-microbial hydro-alcoholic extracts of medicinal plants in two six-millimeter disc and plate-making methods as the diameter of the inhibition zone of both bacteria in the wells of investment was more than paper disc method. In accordance with the results of this project and also considering the increasing resistance to antimicrobial synthetic materials, some medicinal plants like *thyme*, *myrtus* and *rosemary* can be as effective in destroying some bacteria including *E. coli* and *Staphylococcus aureus*.

Key Words: *Bacteria*, *chamomile*, *Rosmarinus*, *Myrtus*, *Thyme*