اثر عصاره‌های آبی و الکلی ریشه باریجه علیه چند سویه پاتوژن باکتریایی

سیدمسعود هاشمی کروئی[۱]، محمد صالحی*[۲]، مریم اصغر حیدری[۳]، مسعود مبینی[۳]، آیت ا... نصرالهی عمران[۱]

۱- استادیار، گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن، تنکابن، ایران.
۲- کارشناس ارشد میکروب شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن، ایران.
۳- کارشناس ارشد میکروب شناسی، باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن، تنکابن، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۳/۱۳ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۰۸/۱۵

چکیده

زمینه و هدف

به دلیل مقاومت روزافزون باکتری‌ها به آنتی‌بیوتیک‌ها، نگرش مجدد و منطقی به گیاهان دارویی مهم به نظر می‌رسد. در این میان باریجه (*Ferula gummosa*) در مطالعات گذشته به عنوان یک گیاه دارویی مهم مورد توجه بوده است. هدف از مطالعه حاضر بررسی تأثیر عصاره‌های آبی و الکلی باریجه روی چند سویه باکتریایی پاتوژن می‌باشد.

مواد و روش‌ها

عصاره‌ها توسط دو حلال آب و الکل به روش سوکسله جدا و سپس به روش‌های انتشار در دیسک، انتشار در چاهک و رقت در لوله مورد بررسی قرار گرفتند.

یافته‌ها

بر اساس روش دیسک و چاهک هیچ هاله عدم رشدی برای هیچ یک از سویه‌ها مشاهده نشد. عصاره اتانولی، فعالیت مهار کنندگی بیشتری نسبت به عصاره‌های متانولی و آبی از خود نشان داد. بیشترین حساسیت در عصاره متانولی مربوط به استافیلوکوکوس اورئوس دارای حداقل غلظت مهار کنندگی و حداقل غلظت باکتری‌کشی به ترتیب برابر با $۶/۲۵\times۱۰^{۳}$ و $۱/۲۵\times۱۰^{۴}$ بود. بیشترین حساسیت در عصاره اتانولی مربوط به اشریشیاکلی و شیگلا دیسانتریه دارای حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت باکتری‌کشی به ترتیب برابر با $۶/۲۵\times۱۰^{۳}$ و $۲/۵\times۱۰^{۴}$ بود.

نتیجه‌گیری

باریجه فعالیت ضد میکروبی با طیف وسیعی را از خود نشان داد و می‌تواند به عنوان یک ماده ضد میکروب بالقوه مورد بررسی و تحقیق بیشتری قرار گیرد.

کلیدواژه‌ها

فعالیت ضد میکروبی، باریجه، عصاره، باکتری‌ها، حداقل غلظت مهارکنندگی

* **نویسنده مسئول:** دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن.
پست الکترونیک: Mohammadsalehi73@gmail.com

مقدمه

با کشف عوامل ضد میکروبی از جمله آنتی‌بیوتیک‌ها، جان میلیون‌ها انسان که از عفونت‌های باکتریایی مزمن رنج می‌بردند نجات داده شد (۱). فرگشت عاملی شد تا به مرور زمان باکتری‌ها مکانیسم‌های مقاومت زیادی را از خود نشان دهند که این مقاومت در باکتری‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها روز به روز در حال افزایش است و این مسأله باعث می‌شود روند درمان عفونت‌های باکتریایی با مشکلات زیادی رو به رو گردد (۳و۲). در حال حاضر بشر باید به فکر جایگزین کردن عوامل ضد میکروبی مؤثر و با عوارض جانبی کمتر به جای مواد ضد میکروبی با اثر کمتر و عوارض ناخواسته بیشتر باشد (۴). استافیلوکوکوس اورئوس یکی از باکتری‌های بیماری‌زاست که موجب عفونت در انسان و حیوان می‌گردد (۵). این باکتری عامل ایجاد ذات‌الریه بعد از عفونت‌های ویروسی، ورم پستان گاو، التهاب وریدها، مننژیت، عفونت دستگاه ادراری، التهاب موضعی استخوان‌ها، اندوکاردیت، ضایعات سطحی پوست و غیره می‌باشد (۶). باسیلوس سوبتلیس یکی از باکتری‌های غذا زاد است. از جمله علایم مسمومیت با این باکتری می‌توان به استفراغ، دردهای شکمی و تهوع ناگهانی اشاره کرد (۷). اشریشیاکلی عامل ۹۰ درصد تمامی عفونت‌های ادراری شناخته شده در بیماران سرپایی می‌باشد. این باکتری دارای ویژگی‌های ویرولانس مختلفی از جمله کلونیزاسیون سطوح مخاطی میزبان و مهار دفاع میزبانی است (۸). همچنین عفونت‌های ناشی از شیگلا دیسانتریه، از مسری‌ترین بیماری‌های اسهال باکتریایی است که می‌تواند اپیدمی‌های گسترده‌ای با میزان مرگ‌ومیر بالا ایجاد کند (۹). شیوع عفونت‌های سالمونلایی در ایران ۸/۳ درصد گزارش شده که ۱/۱ درصد از آلودگی‌های مواد غذایی مربوط به سالمونلا تایفی موریوم می‌باشد (۱۱و۱۰).

بسیاری از داروهای گیاهی ضمن اینکه اثرات مثبت فراوانی دارند، هیچ ضرر و عارضه‌ای را نیز از جمله مقاومت در پی نخواهند داشت. اثرات درمانی گیاهان دارویی اکثراً با عملکرد فیزیولوژیک طبیعی بدن انسان سازگاری بیشتری دارد. طبق گزارش سازمان بهداشت جهانی (WHO) امروزه بیش از ۸۰ درصد مردم جهان (نزدیک به۵ میلیارد نفر)، برای درمان بیماری‌ها هنوز از داروهای گیاهی استفاده می‌کنند (۱۲).

فرولا از تیره چتریان است که دارای ۱۳۳ گونه است. باریجه[۱] از گونه‌های اندمیک این جنس در ایران است (۱۴و۱۳). این گیاه مقاوم و بومی در کوه‌های مرطوب و نواحی نیمه خشک ایران است و توزیع آن در ارتفاع ۴-۲ هزار متر بالاتر از سطح دریا مشاهده می‌شود. باریجه در خاک‌های ماسه‌ای-لومی رشد می‌کند و بهترین زمان برای دسترسی به آن ماه‌های مرداد و شهریور است (۱۵). این گونه از گیاهان مهم دارویی، صنعتی و آروماتیک ایران است. شیرابه و اسانس این گیاه در صنایع مختلف از جمله داروسازی، غذایی، عطرسازی، چسب‌سازی و نظامی مورد استفاده قرار می‌گیرد (۱۶). باریجه ضد انقباض، خلط‌آور، ضد تشنج، ضد زکام و ضد میکروب است و گمان می‌رود دو ترکیب اصلی این گیاه یعنی آلفاپینن و بتاپینن نقش مهمی در فعالیت ضد میکروبی آن داشته باشند (۱۷). اولئوگم رزین باریجه دارای ۵-۳ درصد اسانس، ۷۵-۵۰ درصد رزین، ۴۰-۲۰ درصد مواد صمغی و ۱۰-۱ درصد رطوبت و مواد معدنی است. اسانس باریجه از ۷ گروه ترکیبات مختلف تشکیل شده است که عبارتند از هیدروکربن‌های مونوترپنی که حدود ۷۵-۶۳ درصد اسانس را تشکیل می‌دهند و حاوی بتاپینن، آلفاپینن، دلتا-۳-کارن و هیدروکربن‌های دیگر مانند میرسن، پاراسیمن، لیمونن، ترپینولن، الکل‌های مونوترپنی و استات، سزکوئی‌ترپن‌ها، آزولن‌ها، استرهای تیول، پیرازین‌ها و هیدروکربن‌های با اسکلت غیر ترپنی است (۱۸). صالحی و همکاران گزارش کردند که باریجه دارای فعالیت ضد میکروبی علیه سودوموناس آئروژینوزا می‌باشد که در این بین عصاره‌های اتانولی و متانولی دارای فعالیت بیشتر نسبت به عصاره آبی بودند (۱۹). همچنین طی بررسی دیگری مشخص شد که این گیاه فعالیت ضد کاندیدیایی نیز دارد (۲۰).

هر چند در مطالعات گذشته اثر ضد میکروبی این گیاه ثابت شده است، با این وجود در مطالعه حاضر گونه‌های باکتریایی‌ای در نظر گرفته شد که در مطالعات قبلی مورد بررسی قرار نگرفته‌اند. همچنین از آنجاکه ممکن است اندام‌های ویژه‌ای مانند ریشه، برگ‌ها، ساقه، گل، میوه و غیره بیشترین مواد مؤثر را داشته باشند، بنابراین نمی‌توان کل اندام گیاه را منبع ماده دارویی ویژه‌ای دانست (۱۲). از طرفی استفاده از درمان‌های جایگزین برای کنترل

[۱] Ferula gummosa

عفونت‌های ناشی از این پاتوژن‌ها ضروری به نظر می‌رسد، از این رو در این مطالعه اثرات ضد میکروبی عصاره‌های آبی و الکلی ریشه باریجه علیه چند پاتوژن باکتریایی مورد بررسی قرار گرفت.

■ مواد و روش‌ها

تهیه گیاه و عصاره

در مطالعه حاضر که در آزمایشگاه دانشگاه آزاد تنکابن انجام شد، ریشه گیاه باریجه از ارتفاعات خراسان شمالی تهیه و به تأیید بخش هرباریوم دانشکده علوم دارویی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی (شماره ۵۶۳) رسید. گیاه در شرایط گرم و بدون نور خورشید خشک شد. پس از تهیه پودر ۱۰g از آن توزین و در یک بالن ۲۵۰ml ریخته و سپس حجم نمونه به وسیله اتانول ۹۶ درصد به ۱۰۰ml رسید و مخلوط به خوبی هموژن شد. این عمل روزی ۲ بار به مدت ۳ روز تکرار شد. پس از این مخلوط در مکانی گرم و تاریک به مدت ۲-۱هفته نگهداری و سپس صاف شد و به مدت یک روز در دمای ۴°c-۱ در یخچال قرار گرفت. نهایتاً محلول فیلتر شده و عصاره بدست آمده در شیشه در پیچدار و تیره نگهداری گردید. سپس به روش سوکسله الکل باقی مانده از عصاره جدا شد. در ادامه این مرحله با DMSO و آب مقطر رقت ۱/۵ از آن تهیه گردید.

سویه‌های مورد مطالعه

باکتری‌هایی که در این مطالعه بکار رفت، سویه استافیلوکوکوس اورئوس (PTCC 1431)، باسیلوس سوبتلیس (PTCC 1720)، اشریشیاکلی (PTCC 1399)، شیگلا دیسانتریه (PTCC 1188) و سالمونلا تایفی موریوم (PTCC1622) بود که از مرکز کلکسیون میکروبی و قارچی ایران در پژوهشگاه صنعتی شهریار بصورت لیوفیلیزه تهیه شد.

تهیه سوسپانسیون میکروبی

جهت بدست آوردن سوسپانسیون‌های یکنواخت و همگن از معیار کدورت‌سنجی استاندارد نیم مک فارلند استفاده شد. سوسپانسیون تهیه شده با کدورت معادل نیم مک فارلند برای باکتری‌ها حدود ۱۰^۸ سلول بود.

بررسی اثر ضد میکروبی به روش انتشار در دیسک

۱۰µl از سوسپانسیون به محیط کشت وارد شد. سپس از آن کشت سفره‌ای تهیه گردید. روی هر پلیت ۵ عدد دیسک حاوی مقادیر ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰ و ۵۰µl از رقت ۱/۵ عصاره آبی یا الکلی ریشه باریجه اضافه شد. بعد از ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری در ۳۷°c قطر هاله عدم رشد اندازه‌گیری شد. این عمل برای هر عصاره ۳ بار تکرار و در پایان میانگین قطر هاله‌های ایجاد شده محاسبه گردید (۲۱).

بررسی اثر ضد میکروبی به روش چاهک

از سوسپانسیون های میکروبی ۱۰µl به محیط مولرهینتون آگار وارد شد. سپس از آن کشت سفره‌ای تهیه گردید. در محیط ۵ چاهک به قطر ۱cm در شرایط استریل ایجاد و در چاهک‌های ایجاد شده مقادیر مختلف ۶۰، ۷۰، ۸۰، ۹۰ و ۱۰۰µl از رقت ۱/۵ عصاره آبی یا الکلی باریجه اضافه شد. برای مدتی صبر کردیم تا عصاره‌ها در محیط پخش گردند، بعد از ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری در ۳۷°c، قطر هاله عدم رشد اندازه‌گیری شد. این عمل برای هر عصاره ۳ بار تکرار شد و در پایان میانگین قطر هاله‌های ایجاد شده محاسبه شد (۲۲).

تعیین MIC[۱] و MBC[۲]

در این مرحله از روش رقیق‌سازی مایع بر اساس توصیهٔ NCCLS[۳] برای تعیین حداقل غلظت کشندگی عصاره باریجه استفاده شد. جهت انجام این آزمایش ۱۰µl از سوسپانسیون باکتریایی شامل ۱۰^۸ CFU ml^-1 به محیط مولرهینتون براث حاوی غلظت‌های مختلف کشندگی عصاره آبی و الکلی تلقیح شد. در دمای ۳۷°c به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شد. بعد از انکوباسیون MIC تعیین شد و برای MBC متعاقباً ۱۰µl از لوله‌های قبل از لوله MIC بر روی محیط مولرهینتون آگار کشت و مجدداً در دمای ذکر شده انکوبه شد و MBC تعیین گردید (۲۳).

---

[۱] Minimum Inhibitory Concentration

[۲] Minimum Bactericidal Concentration

[۳] National Committee for Clinical Laboratory Standards

آنالیز آماری

نرم‌افزار آماری SPSS برای آنالیز تمام داده‌ها بکار برده شد. جهت بررسی وجود تفاوت بین عصاره‌های مختلف از آزمون ناپارامتریک فریدمن و به منظور بررسی تفاوت بین هر یک از عصاره‌ها با عصاره دیگری بطور مجزا از آزمون زوجی استفاده شد. مقدار $P<۰/۰۵$ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

■ یافته‌ها

نتایج حاصل از بررسی اثر ضد میکروبی به روش انتشار در دیسک و چاهک

بر اساس روش دیسک و چاهک هیچ هاله عدم رشدی برای هیچ یک از سویه ها مشاهده نشد. بنابراین در ادامه جهت بررسی مقادیر بیشتر از روش رقت در لوله استفاده شد.

نتایج حاصل از تعیین MIC و MBC عصاره آبی ریشه باریجه

جدول شماره ۱ مقادیر MIC و MBC عصاره آبی ریشه باریجه را بعد از ۳ بار تکرار نشان می‌دهد. استافیلوکوکوس اورئوس، باسیلوس سوبتلیس و شیگلا دیسانتریه مقدار MIC را برابر با ۵×۱۰^{۴}µg/ml نشان دادند در حالیکه در اشریشیاکلی و سالمونلا تایفی موریوم MIC بیشتر از ۵×۱۰^{۴}µg/ml بود. به منظور از بین بردن تمام سویه‌ها به غلظتی بیش از این مقدار نیاز بود (جدول شماره ۱).

جدول شماره ۱- نتایج حاصل از فعالیت ضد باکتریایی عصاره آبی باریجه علیه سویه‌های پاتوژن (µg/ml)

سویه	MIC	MBC
استافیلوکوکوس اورئوس	۵×۱۰^{۴}	$>۵\times۱۰^{۴}$
باسیلوس سوبتلیس	۵×۱۰^{۴}	$>۵\times۱۰^{۴}$
اشریشیاکلی	$>۵\times۱۰^{۴}$	$>۵\times۱۰^{۴}$
شیگلا دیسانتریه	۵×۱۰^{۴}	$>۵\times۱۰^{۴}$
سالمونلا تایفی موریوم	$>۵\times۱۰^{۴}$	$>۵\times۱۰^{۴}$

تعیین MIC و MBC عصاره متانولی ریشه باریجه

جدول شماره ۲ مقادیر MIC و MBC عصاره متانولی ریشه باریجه را بعد از ۳ بار تکرار نشان می‌دهد. کمترین غلظت مهارکنندگی عصاره متانولی در ارتباط با استافیلوکوکوس اورئوس ($۶/۲۵\times۱۰^{۳}$µg/ml) و بیشترین غلظت مهارکنندگی آن مربوط به سالمونلا تایفی موریوم (۵×۱۰^{۴}µg/ml) می‌باشد. عصاره متانولی ریشه باریجه با کمترین غلظت قادر به از بین بردن استافیلوکوکوس اورئوس می‌باشد در حالیکه برای از بین بردن سالمونلا تایفی موریوم نیاز به غلظتی بیشتر از ۵×۱۰^{۴}µg/ml می‌باشد (جدول شماره ۲).

جدول شماره ۲- نتایج حاصل از فعالیت ضد باکتریایی عصاره متانولی باریجه علیه سویه‌های پاتوژن (µg/ml)

سویه	MIC	MBC
استافیلوکوکوس اورئوس	$۶/۲۵\times۱۰^{۳}$	$۱/۲۵\times۱۰^{۴}$
باسیلوس سوبتلیس	$۱/۲۵\times۱۰^{۴}$	$۲/۵\times۱۰^{۴}$
اشریشیاکلی	$۱/۲۵\times۱۰^{۴}$	۵×۱۰^{۴}
شیگلا دیسانتریه	$۱/۲۵\times۱۰^{۴}$	$۲/۵\times۱۰^{۴}$
سالمونلا تایفی موریوم	۵×۱۰^{۴}	$>۵\times۱۰^{۴}$

نتایج حاصل از تعیین MIC و MBC عصاره ی اتانولی ریشه باریجه

جدول شماره ۳ مقادیر MIC و MBC عصاره اتانولی ریشه باریجه را بعد از ۳ بار تکرار نشان می‌دهد. عصاره اتانولی با غلظتی برابر با $۶/۲۵\times۱۰^{۳}$µg/ml قادر به مهار دو باکتری اشریشیاکلی و شیگلا دیسانتریه بود، در حالیکه برای از بین بردن این باکتری‌ها به غلظتی برابر با $۲/۵\times۱۰^{۴}$µg/ml نیاز بود (جدول شماره ۳).

جدول شماره ۳- نتایج حاصل از فعالیت ضد باکتریایی عصاره اتانولی باریجه علیه سویه‌های پاتوژن (µg/ml)

سویه	MIC	MBC
استافیلوکوکوس اورئوس	$۱/۲۵\times۱۰^{۴}$	۵×۱۰^{۴}
باسیلوس سوبتلیس	$۱/۲۵\times۱۰^{۴}$	۵×۱۰^{۴}
اشریشیاکلی	$۶/۲۵\times۱۰^{۳}$	$۲/۵\times۱۰^{۴}$
شیگلا دیسانتریه	$۶/۲۵\times۱۰^{۳}$	$۲/۵\times۱۰^{۴}$
سالمونلا تایفی موریوم	$۱/۲۵\times۱۰^{۴}$	۵×۱۰^{۴}

نتایج حاصل از آنالیز آماری

نتایج آزمون نانپارامتریک فریدمن جهت مقایسه جداول شماره ۱، ۲ و ۳ نشان داد بین میزان اثر عصاره‌های مختلف بطور کلی تفاوت معنی‌داری وجود دارد (P=۰/۰۱۶). نتایج آزمون زوجی به منظور مقایسه هر یک از عصاره‌ها نسبت به دیگری نشان داد که بین تأثیر عصاره‌های متانولی و عصاره آبی تفاوت معنی‌دار وجود دارد (P=۰/۰۰۵) و همچنین بین تأثیر عصاره اتانولی نسبت به عصاره آبی نیز تفاوت معنی‌دار است (P=۰/۰۰۹). رابطه دو عصاره الکلی نسبت به یکدیگر بر اساس آزمون زوجی معنی‌دار نبود (P=۰/۳۱۳).

■ بحث

همانطور که نتایج نشان داد عصاره‌های الکلی ریشه باریجه اثر ضد باکتریایی بر پاتوژن‌های منتخب در مطالعه حاضر دارد و عصاره اتانولی نسبت به عصاره متانولی و به مراتب نسبت به عصاره آبی فعالیت ضد میکروبی بیشتری دارد. بیشترین حساسیت در عصاره متانولی مربوط به استافیلوکوکوس اورئوس دارای MIC و MBC به ترتیب برابر با $۶/۲۵\times۱۰^{۳}$ و $۱/۲۵\times۱۰^{۴}$µg/ml بود (جدول شماره ۲). بیشترین حساسیت در عصاره اتانولی مربوط به اشریشیاکلی و شیگلا دیسانتریه دارای MIC و MBC به ترتیب برابر با $۶/۲۵\times۱۰^{۳}$ و $۲/۵\times۱۰^{۴}$µg/ml گزارش شد (جدول شماره ۳). عصاره آبی فعالیت ضد میکروبی خوبی علیه پاتوژن‌های منتخب نشان نداد، بطوریکه MBC برای تمامی سویه‌ها بیشتر از ۵×۱۰^{۴}µg/ml بود (جدول شماره ۱). آزمون نانپارامتریک فریدمن نشان داد بین تأثیر عصاره‌های مختلف بطور کلی تفاوت معنی‌داری وجود دارد (P=۰/۰۱۶). برای مقایسه هر یک از عصاره‌ها نسبت به دیگری از آزمون زوجی استفاده شد که نتایج این آزمون تفاوت معنی‌دار تأثیر عصاره‌های متانولی (P=۰/۰۰۵) و اتانولی (P=۰/۰۰۹) را نسبت به عصاره آبی نشان داد. با این وجود تفاوت معنی‌داری بین دو عصاره الکلی نسبت به یکدیگر مشاهده نشد (P=۰/۳۱۳). در مقایسه با سایر مطالعات انجام گرفته روی گونه‌های هم خانواده باریجه، این نتایج در برخی موارد مغایرت و در برخی موارد مشابهت داشت.

صالحی و همکاران در سال‌های ۲۰۱۴ و ۲۰۱۵ متوجه شدند عصاره‌های الکلی گیاه باریجه بر سودوموناس آئروژینوزا و کاندیدا آلبیکنس اثر مهاری و کشندگی دارد، بطوریکه در مطالعه انجام شده بر روی سودوموناس آئروژینوزا MIC و MBC عصاره اتانولی به ترتیب برابر با $۶/۲۵\times۱۰^{۴}$ و $۲/۵\times۱۰^{۴}$µg/ml بود و برای عصاره متانولی نیز به ترتیب برابر با $۱/۲۵\times۱۰^{۴}$ و ۵×۱۰^{۴}µg/ml بود (۲۰و۱۹). مقادیر مربوط به عصاره اتانولی در مطالعه صالحی و همکاران با مقادیر اشریشیاکلی و شیگلا دیسانتریه در مطالعه حاضر همخوانی داشت و همچنین مقادیر مربوط به عصاره متانولی تنها با مقادیر اشریشیاکلی همخوانی داشت.

نتایج حاصل از مطالعه قاسمی و همکاران روی فعالیت ضد میکروبی اسانس گیاه باریجه علیه سویه استافیلوکوکوس اورئوس، باسیلوس سوبتلیس، اشریشیاکلی، و سالمونلا تایفی به روش انتشار در دیسک بسیار قابل توجه بود. در مطالعه ما هیچ هاله مهاری رشد به روش انتشار در دیسک برای این سویه‌ها مشاهده نشد که ممکن است این اختلاف به خاطر مقدار و نوع مواد مؤثر اسانس در برابر عصاره باشد. بدین معنی که مواد مؤثر اسانس این گیاه در مقابل مواد موثر عصاره دارای فعالیت ضد میکروبی بیشتری است (۲۴). قاسمی و همکاران همچنین ۷۳ ترکیب را با روش GC/MS در میوه گیاه باریجه شناسایی کردند. بتا پینن (۴۳/۷۸ درصد)، آلفا پینن (۲۷/۲۷ درصد) و میرسین (۳/۳۷ درصد) مهم‌ترین ترکیبات گیاه بودند که با توجه به نتایج سایر پژوهشگران روی این گیاه احتمالاً خاصیت ضد میکروبی باریجه به این ترکیبات بر می‌گردد (۲۴).

عبدی و همکاران فعالیت ضد میکروبی الئوگام رزین باریجه را به روش آلمار بلو (MABA) بررسی کردند. نتایج نشان داد اسانس این گیاه رشد اشریشیاکلی (MIC=۰/۲۵μg/ml)، استافیلوکوکوس اورئوس (MIC=۳/۱۲۵μg/ml) و سالمونلا اینتریتیدیس (MIC=۶/۲۵μg/ml) را مهار کرد (۲۵). در این مطالعه از مقادیر بسیار کمتری نسبت به مطالعه حاضر استفاده شده که نشان دهنده فعالیت بیشتر رزین این گیاه نسبت به عصاره آن است. نکته دیگر روش آلمار بلو می‌باشد که شاید دارای دقت بیشتری نسبت به روش رقت در لوله باشد.

در پژوهش دیگری، Ibraheim و همکاران اثرات ضد میکروبی سسکوئی ترپن‌های جدا شده از *Ferula hermonis* را با استفاده از روش میکرودایلوشن مورد مطالعه قرار دادند که نتایج نشان داد این ترکیبات فعالیت ضد میکروبی بالقوه خوبی علیه باکتری‌ها به ویژه باکتری‌های گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس و باسیلوس سوبتلیس دارند (۲۶). در مقایسه با مطالعه حاضر، عصاره متانولی، نتایج نزدیکتری به این مطالعه دارد بطوریکه بیشترین اثر ضد میکروبی عصاره متانولی علیه استافیلوکوکوس اورئوس بدست آمد. Hilan و همکاران فعالیت ضد باکتریایی اسانس *Ferula hermonis* را ارزیابی کردند. اسانس این گیاه نشان داد، رزین این گیاه به شدت علیه باکتری‌های گرم منفی مؤثر بود، در حالیکه اسانس ریشه این گیاه بیشتر علیه باکتری‌های گرم مثبت مؤثر بود. ۵۰μg/ml از اسانس ریشه این گیاه ظرف ۱۰ دقیقه ۶۰۰۰ میکروارگانیسم استافیلوکوکوس اورئوس را مهار کرد و ۵۰μg/ml از عصاره رزین ۱۵۳۰۰ میکروارگانیسم اشریشیاکلی را ظرف ۲۴ ساعت از بین برد (۲۷). در نتایج حاصل از مطالعه حاضر تفاوت بین تأثیر عصاره‌ها و نوع میکروارگانیسم به وضوح مشاهده می‌شود بطوریکه عصاره متانولی بیشتر علیه گرم مثبت و عصاره اتانولی بیشتر علیه گرم منفی مؤثر بود.

بشیر و همکاران فعالیت ضد باکتریایی Ferula narthex Boiss را مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد عصاره متانولی این گیاه رشد اشریشیاکلی، سالمونلا تیفی و استرپتوکوکوس پنومونیه را به ترتیب تا ۸۰، ۸۱/۲ و ۸۰ درصد مهار کرد (۲۸). در حالیکه در مطالعه حاضر بیشترین تأثیر عصاره متانولی علیه استافیلوکوکوس اورئوس و کمترین تأثیر این عصاره روی سالمونلا تیفی موریوم مشاهده شد. تناقض مشاهده شده احتمالاً به تفاوت بین گونه‌ها و روش کار بر می‌گردد.

مسعود و همکاران فعالیت ضد میکروبی عصاره آبی زیره علیه ۱۸۸ ایزوله باکتریایی به روش انتشار در دیسک را مورد بررسی قرار دادند. عصاره این گیاه رشد ۷۳ درصد میکروارگانیسم‌ها را مهار کرد (۲۹). روش انتشار در دیسک در مطالعه حاضر کارآمدی مورد انتظار را نداشت و هیچ یک از باکتری‌ها را مهار نکرد.

Ertürk و همکاران حداقل غلظت ممانعت از رشد عصاره ی اتانولی زیره (*Cuminum cyminum L.*) را برای اشریشیاکلی، باسیلوس سوبتلیس، استافیلوکوکوس اورئوس به ترتیب برابر ۱۰، ۱۰ و ۱۲/۵μg/ml گزارش دادند (۳۰). عصاره اتانولی باریجه در مقایسه با عصاره اتانولی زیره فعالیت ضد میکروبی کمتری نشان داد بطوریکه برای از بین بردن باکتری‌های مورد مطالعه نیاز به مقدار بیشتری از عصاره اتانولی باریجه می‌باشد.

■ نتیجه‌گیری

اختلاف موجود در مقادیر گزارش شده ممکن است مربوط به نوع روش و سویه‌های بکار رفته در آزمایش باشد. از آنجاکه در مطالعات قبلی گزارش شده که دو ترکیب آلفاپینن و بتاپینن دارای اثر ضد میکروبی مشخصی هستند، به احتمال زیاد فعالیت ضد میکروبی این گیاه در این مطالعه نیز به آلفاپینن و بتاپینن مربوط می‌شود (۲۵).

عصاره متانولی و اتانولی ریشه باریجه دارای فعالیت ضد میکروبی بیشتری علیه باکتری‌های مورد مطالعه نسبت به عصاره آبی ریشه باریجه بود. باریجه می‌تواند به عنوان یک ماده ضد میکروب بالقوه مورد بررسی و تحقیق بیشتری قرار گیرد.

از محدودیت‌های پژوهش حاضر می‌توان به عدم استفاده از آنتی‌بیوتیک مرتبط با هر سویه و مقایسه آن با فعالیت ضد میکروبی عصاره‌های بکار رفته اشاره نمود. همچنین بررسی اثر ضد میکروبی DMSO نیز علی‌رغم استفاده فراوان آن در چنین مطالعاتی توصیه می‌شود. در این زمینه پیشنهاد می‌شود در مطالعات آتی تأثیر ضد میکروبی گیاه باریجه در شرایط In vivo در حیوانات آزمایشگاهی نیز بررسی گردد. فعالیت ضد میکروبی این گیاه را می‌توان روی سویه‌های بی‌هوازی نیز مورد بررسی قرار داد. همچنین می‌توان در بررسی‌های آینده ترکیبات این گیاه را بطور جداگانه مورد بررسی قرار داد تا مشخص گردد فعالیت مذکور با کدام ترکیب گیاه مرتبط است.

■ تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان‌نامه به شماره ثبت ۱۵۹۳۰۵۰۷۸۹۲۰۲۳ می‌باشد که بصورت شخصی تأمین اعتبار شد. مؤلفین این اثر از تمامی اعضای معاونت پژوهشی و آزمایشگاه دانشگاه آزاد واحد تنکابن سپاسگزاری می‌نمایند.

■ References

1. Powers JH. Antimicrobial drug development–the past, the present, and the future. Clin Microbiol Infect. 2004;10(4):23-31.

2. Andersson DI, Hughes D. Antibiotic resistance and its cost: is it possible to reverse resistance?. Nat Rev Microbiol. 2010;8(4):260-71.

3. Levin BR, Rozen DE. Non-inherited antibiotic resistance. Nat Rev Microbiol. 2006;4(7):556-62.

4. Rios J, Recio M. Medicinal plants and antimicrobial activity. J Ethnopharmacol. 2005;100(1-2):80-4.

5. Mørk T, Waage S, Tollersrud T, Kvitle B, Sviland S. Clinical mastitis in ewes; bacteriology, epidemiology and clinical features. Acta Vet Scand. 2007;49(1):23.

6. Turkyilmaz S, Kaya O. Determination of some Virulence Factors in Staphylococcus Spp Isolated from Various Clinical Samples. Turk J Vet Anim Sci. 2006;30:127-32.

7. Jay JM, Loessner MJ, Golden DA. Modern food microbiology, 7th ed. New York: Springer Science; 2005,583-90.

8. Johnson JR. Virulence factors in Escherichia coli urinary tract infection. Clin Microbiol Rev. 1991;4(1):80-128.

9. Lafont F, Van Nhieu GT, Hanada K, Sansonetti P, van der Goot FG. Initial steps of Shigella infection depend on the cholesterol/sphingolipid raft-mediated CD44-IpaB interaction. EMBO J. 2002;21(17):4449-57.

10. Jamshidi A, Bassami MR, Afshari Nic S. Identification of Salmonella spp. and Salmonella typhimurium by a multiplex PCR-based assay from poultry carcasses in Mashhad-Iran. Iran J Vet Med. 2009;3(1):43-8.

11. Nosrat S, Sabokbar A, Dezfoolian M, Tabarraie B, Fallah F. Prevalence of Salmonella enteritidis, typhi and typhimurium from food products in Mofid hospital. Pajouhesh Dar Pezeshki. 2012;36(1):43-8 .[Persian]

12. Ebrahimpoor F, Eydizadeh K. Medicinal Plants.1 st ed. Tehran: Payame Noor University; 2009. [Persian]

13. Zargari A. Medicinal Plants. 8th ed. Tehran: Tehran University Publication; 2002. [Persian]

14. Mozaffarian V. [Plant Classification, Morphology-Taxonomy]. 1st ed. Tehran: Amirkabir press; 2005. [Persian]

15. Mohammadzadeh Milani J, Rezaii K, Safari M, Ghanbarzadeh B, Phillips GO. Extraction and physicochemical properties of Barijeh (Ferula galbaniflua) gum. Journal of Food and Bioprocess Engineerin. 2015;1(2):9-20.

16. Moreira M, Ponce A, Del Valle C, Roura S. Inhibitory parameters of essential oils to reduce a foodborne pathogen. LWT-Food Sci Technol. 2005;38(5):565-70.

17. Ramezani M, Hosseinzadeh H, Mojtahedi K. Effects of Ferula gummosa Boiss. fractions on morphine dependence in mice. J Ethnopharmacol. 2001;77(1):71-5.

18. Shahrokhi N. [Quality control methods for raw materials of herbal medicines]. 1st ed. Tehran: Jahad Daneshgahi Publications of Shahid Beheshti University; 1996. [Persian]

19. Salehi M, Hashemi Karuie S, Nasrolahi Omran A, Mobini M, Asghar Hedari M. Effect of aqueous and alcoholic extracts of roots of Ferula gummosa Boiss. on the growth of Pseudomonas aeruginosa. J Gorgan Uni Med Sci. 2013;15(4):18-22. [Persian]

20. Salehi M, Hashemi Karoui M, Nasrollahi Omran A, Mobini M, Aaghar Heydari M. Antifungal activity of in vitro aqueous and alcoholic extracts of Barije root (Ferula gummosa). J Birjand Uni Med Sci. 2015;21(4):444-50. [Persian]

21. CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard-Eleventh Edition. 2012.

22. CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard-Tenth Edition. 2015.

23. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. Approved Standards. NCCLS Document M7-A5. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne. 2001.

24. Ghasemi Y, Faridi P, Mehregan I, Mohagheghzadeh A. Ferula gummosa fruits: an aromatic antimicrobial agent. Chem Nat Compd. 2005;41(3):311-4.

25. Abedi D, Jalali M, Asghari G, Sadeghi N. Composition and antimicrobial activity of oleogumresin of Ferula gumosa Bioss. essential oil using Alamar Blue™. Res Pharm Sci. 2008;3(1):41-5.

26. Ibraheim ZZ, Abdel-Mageed WM, Dai H, Guo H, Zhang L, Jaspars M. Antimicrobial antioxidant daucane sesquiterpenes from Ferula hermonis Boiss. Phytother Res. 2012;26(4):579-86.

27. Hilan C, Sfeir R, El Hage R, Jawich D, Frem ME, Jawhar K. Evaluation of the antibacterial activities of Ferula hermonis (Boiss.). Leban Sci J. 2007;8(2):135-51.

28. Bashir S, Alam M, Ahmad B, Aman A. Antibacterial, anti-fungal and phytotoxic activities of Ferula narthex Boiss. Pak J Pharm Sci. 2014;27(6):1819-25.

29. Chaudhry NMA, Tariq P. In vitro antibacterial activities of kalonji, cumin and poppy seed. Pak J Bot. 2008;40(1):461-7.

30. Ertürk Ö. Antibacterial and antifungal activity of ethanolic extracts from eleven spice plants. Biologia. 2006;61(3):275-8.

Effect of Aqueous and Alcoholic Extracts of Roots of *Ferula Gummosa Boiss* on Growth of Some Bacterial Pathogens

Seyed Masood Hashemi Karuie[1], Mohammad Salehi[*2], Maryam Asghar Heidari[3], Masood Mobiny[3], Ayatollah Nasrollahi Omran[1]

1- Assistant Professor, Department of Biology, Islamic Azad University, Tonekabon Branch, Tonekabon, Iran.
2- MSc in Biology, Islamic Azad University, Tonekabon Branch, Tonekabon, Iran.
3- MSc in Biology, Young Researchers and Elite Club, Islamic Azad University, Tonekabon Branch, Tonekabon, Iran.

Received Date: 2016/06/02 **Accepted Date: 2016/11/05**

Abstract

Introduction and Aims

Because of the day-increasing resistance of the bacteria to antibiotics, further logical viewpoint to the medicinal plants seems to be important. The *Ferula gummosa* considered as a great medicinal plant in past studies. The aim of this study was investigation of aqueous and alcoholic extracts of roots of *F.gummosa Boiss* on growth of some bacterial pathogens.

Materials and Methods

The extracts were prepared by Soxhlet method and were studied by disc diffusion, well diffusion and tube dillution methods.

Results

According to the disc diffusion and the well diffusion methods, no inhibitory zone have seen against investigated bacteria. The ethologic extract showed more inhibitory effect than the methanolic and aquatic extracts. The most sensitive bacterium to methanol extract was *Staphylococcus aureus* with minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) equal to 6.25×۱۰^{3} and 1.25×10^{4} respectively. The most sensitive bacteria to ethanol extract were *Escherichia coli* and *Shigella dysenteriae* with MIC and MBC equal to 6.25×۱۰^{3} and 2.5×10^{4} respectively.

Conclusion

Further study is needed about potent antimicrobial activities of *F.gummosa Boiss*.

Keywords

Antimicrobial activity, *Ferula gummosa*, Crude extracts, Bacteria, MIC

*** Corresponding Author:** Islamic Azad University, Tonekabon Branch.
E-mail: Mohammadsalehi73@gmail.com