

اثر ضدباکتریایی عصاره الکلی مرزه بختیاری (*Satureja bachtiarica*) بر چهار سویه باکتری بیماری‌زا در انسان

The Antibacterial Effect of Alcoholic Extraction of *Satureja bachtiarica* on Four Bacterial Human Pathogens

بتول زارعی^۱، دانیال کهریزی^۲، طیب سیفی^۳، راحیل موحدی^۴، متین قاهری^۵ و الهام کاظمی^{۶*}

تاریخ پذیرش: ۹۶/۰۲/۱۷

تاریخ دریافت: ۹۱/۱۱/۰۱

چکیده

مرزه بختیاری گیاهی با ارزش دارویی است که به‌طور گسترده در طب سنتی ایرانی استفاده شده است. جهت تهیه عصاره الکلی مرزه بختیاری، در مرحله گل‌دهی سرشاخه‌های هوایی و گلدار این گیاه جمع‌آوری شد و پس از خشک کردن آن‌ها در سایه، به روش سوکسله و عصاره‌گیری گردید. اثر ضدباکتریایی شش غلظت مختلف از این عصاره گیاهی به همراه دو آنتی‌بیوتیک تتراسایکلین و جنتامایسین بر روی دو باکتری گرم مثبت *Streptococcus agalactiae* و *Staphylococcus aureus* و دو باکتری گرم منفی *Klebsiella pneumoniae* و *Escherichia coli* که به‌ترتیب عامل ایجاد عفونت در نوزاد انسان، عفونت‌های بیمارستانی بعد از عمل جراحی، عفونت مجاری ادراری و اسهال هستند، بررسی شد. یک سطح عدم‌استفاده از عصاره هم به‌عنوان شاهد استفاده گردید ولی به‌دلیل داده‌های پرت از تحلیل آماری حذف گردید. پژوهش حاضر به‌صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با ۳ تکرار انجام شد. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثرات عوامل عامل کنترل‌گر و سویه باکتری بر روی صفت قطر هاله عدم رشد باکتری از نظر آماری در سطح ۱ درصد معنی‌دار بودند. هم‌چنین نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که اثر عصاره بر روی باکتری *K. pneumoniae* با قطر هاله عدم‌رشد برابر با ۲۱/۳۳-۱۵/۶۶ میلی‌متر، بیشتر از تأثیر عصاره بر روی باکتری *E. coli* با قطر هاله عدم‌رشد برابر با ۱۸-۱۰/۶۶ میلی‌متر بوده است.

واژه‌های کلیدی: حداقل غلظت بازدارنده، حداقل غلظت‌کشنده، انتشار بر پلیت، باکتری گرم مثبت، باکتری گرم منفی

۱ و ۲. به‌ترتیب دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد و دانشیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه رازی، کرمانشاه

۳. دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد، گروه باکتری‌شناسی، دانشکده پیرادامپزشکی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان

۴. دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام، ایلام

۵. دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد گروه بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه رازی، کرمانشاه

۶. دانشجوی دکترای پژوهش محور مرکز تحقیقات باروری و ناباروری، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه

* نویسنده مسوول Email: ekazemi2002@yahoo.com

فعالیت ضد میکروبی علیه باکتری‌های گرم منفی *Escherichia coli* و *Pseudomonas aeruginosa* و *Salmonella choleraesuis* باکتری‌های گرم مثبت *Listeria monocytogenes* و *Bacillus cereus* کپک‌های *Penicillium islandicum* و *Aspergillus flavus* و مخمر *Candida albicans* دارند لیز و همکاران (Lopez et al., 2007).

در پژوهشی توسط علیزاده بهبهانی و همکاران (Alizadeh et al., 2014)، اثر ضد میکروبی عصاره‌های آبی و اتانولی مرزه بختیاری بر باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی در شرایط آزمایشگاهی بررسی شد و گزارش گردید که عصاره اتانولی مرزه بختیاری دارای اثر ضد میکروبی قابل ملاحظه‌ای بر *Listeria*، *Enterobacter aerogenes*، *Salmonella typhi*، *Enterococcus faecalis* و *Bacillus cereus* است. هم‌چنین حبیبیان دهکردی و همکاران (Habibian et al., 2012)، اثرات ضدباکتریایی عصاره الکلی مرزه بختیاری را بر برخی باکتری‌های بیماری‌زای غذازاد در گوشت قرمز بررسی کرده و گزارش دادند که مرزه بختیاری می‌تواند به‌عنوان نگهدارنده علیه باکتری‌های *Staphylococcus aureus* و *Escherichia coli* در صنایع غذایی مورد استفاده قرار گیرد. باکتری‌های مورد مطالعه در این پژوهش، همگی عامل ایجاد عفونت‌های خطرناک در انسان هستند که به‌طور مختصر در زیر به آن‌ها اشاره شده است.

باکتری *Streptococcus agalactiae* نوعی باکتری گرم مثبت است که به‌طور طبیعی در روده برخی انسان‌ها وجود دارد و می‌تواند جایگاه‌های ثانویه‌ای مانند واژن در زنان داشته باشد. در هنگام تولد و عبور نوزاد از کانال زایمان، نوزاد می‌تواند به این باکتری آلوده شود. این باکتری می‌تواند در نوزاد ایجاد عفونت کند که عفونت به شکل مننژیت، پنومونی و سپتی سمی (عفونت خون) خود را نشان می‌دهد چریان و همکاران (Cherian et al., 2009).

باکتری *Staphylococcus aureus* نوعی باکتری گرم مثبت است که عامل مهم انواع عفونت‌های چرکی و سمی در انسان می‌باشد. بیش‌ترین بیماری‌هایی که توسط این باکتری ایجاد می‌شوند عبارتند از: نومونیا، ورم پستان، عفونت‌های مجرای ادرار و التهاب جدار عروق، مننژیت، التهاب مغز استخوان و ... یکی از علل اصلی بروز عفونت‌های موجود در بیمارستان‌ها بعد از عمل جراحی همین باکتری است که تولید توکسین نموده و گاهی با ایجاد شوک در بیمار همراه می‌باشد پلاتا و همکاران (Plata et al., 2009).

امروزه در بیشتر کشورهای جهان، دانش گیاه درمانی در دستور کار پژوهش‌های جوامع علمی قرار گرفته است و همواره توجه به طب گیاهی روند رو به رشدی داشته است. در کشور ما، صرف‌نظر از حدود ۱۵۰ گونه گیاه دارویی که مصرف سنتی و فله‌ای دارند، حدود ۸۵ نوع داروی گیاهی به اشکال مختلف و با کیفیت مناسب در فارماکوپه گیاهی وجود دارد. از نظر کیفیت بسیاری از این گیاهان با نمونه‌های خارجی برابری می‌کند به‌طوری‌که تعدادی از آن‌ها نیز به کشورهای دیگر صادر می‌شوند شفیعی‌زاده (Shafie-Zadeh, 2002). با توجه به روند افزایشی جمعیت و هم‌چنین نیاز مبرم صنایع داروسازی به گیاهان دارویی، به‌عنوان مواد اولیه تهیه دارو و مواد آرایشی و بهداشتی، تولید، مصرف و تجارت این گیاهان از اهمیت خاصی برخوردار می‌باشد هورنوک (Hornock, 1992). در سال‌های اخیر استفاده از گیاهان در درمان بیماری‌ها روند رو به رشدی پیدا کرده است. به‌طوری‌که استفاده بی‌رویه از داروهای شیمیایی جهت درمان بیماری‌ها، منجر به ظهور ایزوله‌های مقاوم میکروبی گردیده است که هر روز بر تعداد آن‌ها افزوده می‌شود. ظهور سویه‌های مقاوم به داروهای شیمیایی، تلاش برای یافتن عوامل ضد میکروبی جدید را ضروری می‌نماید. گیاهان دارویی و ترکیبات آن‌ها، شامل اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی، دارای توانی بالقوه جهت جایگزینی با داروهای شیمیایی هستند. این درحالی است که عوارض جانبی این ترکیبات در مقایسه با داروهای شیمیایی کمتر است الیس و بگزنداله؛ داپونت و همکاران (Ellis and Baxendale, 1997; Dupont et al., 1996).

مرزه بختیاری با نام علمی *Satureja bachtiarica*، به خانواده Lamiaceae تعلق دارد و یکی از گونه‌های انحصاری مرزه در ایران است /حمیدی و همکاران (Ahmadi et al., 2009). جنس *Satureja* در ایران ۱۴ گونه گیاه علفی یک‌ساله و چندساله دارد که ۹ گونه از آن‌ها بومی ایران بوده است و در مناطق مختلف کشور مانند استان‌های لرستان، خوزستان، ایلام، کرمانشاه، اصفهان، نواحی شمال شرقی، گیلان، یزد و بعضی نقاط دیگر می‌رویند سفیدکن و همکاران (Sefidkon et al., 2005). /حمیدی و همکاران (2009) گزارش کردند که اسانس سرشاخه‌های گلدار *Satureja bachtiarica* جمع‌آوری شده از شهرکرد قبل از گل‌دهی حاوی ۳۶/۵٪ پاراسیمن و ۲۰٪ کارواکرول بودند درحالی‌که در مرحله گل‌دهی کامل حاوی میزان پاراسیمن ۲۳/۲٪، کارواکرول ۲۵/۸٪ و منتون ۱۸/۵٪ به‌عنوان مهم‌ترین ترکیبات بودند. در مطالعات قبلی نشان داده شد که کارواکرول، تیمول و سینام آلدئید در فاز بخار، قوی‌ترین

۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت گذاشته، از عصاره حاصل، استوک‌هایی با غلظت‌های متفاوت تهیه شد (هندا/ و همکاران (Handa et al., 2008).

فعالیت‌های ضدباکتریایی

سویه‌های مرجع باکتریایی مورد استفاده شامل دو باکتری گرم مثبت و دو باکتری گرم منفی به شرح ذیل بودند:

دو نوع باکتری گرم مثبت :

۱. *Streptococcus agalactiae* strain ATCC 13813

۲. *Staphylococcus aureus* strain ATCC 33591

دو نوع باکتری گرم منفی

۱. *Klebsiella pneumonia* strain ATCC 10031

۲. *Escherichia coli* strain ATCC 25922

سویه‌های میکروبی مذکور از مرکز منطقه‌ای کلکسیون قارچها و باکتری‌های صنعتی ایران تهیه شدند. یک سطح عدم استفاده از عصاره هم به‌عنوان شاهد استفاده گردید ولی به‌دلیل داده‌های پرت از تحلیل آماری حذف گردید.

برای بررسی اثرات ضد میکروبی از دو روش انتشار در آگار به روش دیسک دیفیوژن (Disk fusion assay) و روش رقت لوله‌ای استفاده شد. از باکتری کشت داده شده به مدت ۲۴ ساعت روی محیط کشت مولر هینتون آگار (Mueller Hinton Agar) سوسپانسیونی با رقت ۰/۵ مک‌فارلند (McFarland) در محیط کشت مولر هینتون برات (Mueller-Hinton Broth) به روش بارون و همکاران (Baron et al., 1990) تهیه شد. سپس یک میلی‌لیتر از سوسپانسیون هر کدام از باکتری‌ها به روش Pure play کشت داده شد (۰/۵ میلی‌لیتر از سوسپانسیون با ۲۵ میلی‌لیتر محیط کشت مولر هینتون آگار مخلوط شد) اسپینل- اینگروف و همکاران (Espinell-Ingroff et al., 2002). بعد از کشت باکتری مورد نظر به صورت چمنی در سطح پلیت حاوی محیط کشت مولر هینتون آگار دیسک‌های استریل تهیه شده را توسط پنس استریل روی سطح پلیت آلوده به باکتری قرار داده و بعد از تماس کامل با محیط کشت با فاصله مناسب از یکدیگر، با سمپلر مقدار ۲۰ میکرولیتر از عصاره‌های گیاهی رقیق شده با غلظت‌های مختلف (۱۲/۵، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) روی دیسک‌ها ریخته شد. رقیق‌سازی توسط دی‌متیل سولفوکساید انجام شد. سپس قطر هاله ممانعت از رشد پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون پلیت‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد اندازه‌گیری شد. هم‌چنین اثر ضد میکروبی این اسانس‌ها در مقایسه با دیسک‌های آنتی‌بیوتیک تتراسایکلین و جنتامایسین مورد بررسی قرار گرفت. آزمایش تعیین اثر ضد میکروبی با سه تکرار انجام و

باکتری *Klebsiella pneumonia* نوعی باکتری گرم منفی است. محل معمولی کلونیزاسیون این باکتری در انسان سالم دستگاه معده و روده، چشم، دستگاه تنفسی و دستگاه ادراری، تناسلی است ولی می‌تواند در ریه‌ها و دستگاه ادراری ایجاد بیماری کند. این باکتری عامل پنومونی، سپسیس، عفونت‌های بیمارستانی و عفونت دستگاهی ادراری است کاسلاس و همکاران (Casellas et al., 2002).

باکتری *Escherichia coli* نوعی باکتری گرم منفی است. سویه‌های بیماری‌زای این باکتری معمولاً در مدفوع انسان و حیوانات یافت می‌شوند. این باکتری عامل ایجاد بیماری‌هایی مثل اسهال، عفونت‌های مجاری ادراری، ذات‌الریه اولیه بیمارستانی، مننژیت در نوزادان، عفونت‌های زخم، پریتونیت، سپتی سمی و... می‌باشد کاپر و همکاران (Kaper et al., 1998).

با پیدایش مقاومت‌های روزافزون میکروب‌ها به آنتی‌بیوتیک‌ها، انجام اقدامات جایگزین و نوین در این زمینه ضرورت دارد. با توجه به روند روبه رشد استفاده از گیاهان دارویی، وجود ترکیبات بیولوژیکی فعال موجود در گیاهان دارویی و وجود اکوسیستم‌های بسیار غنی این گیاهان در استان ایلام، این پژوهش به منظور تعیین اثر عصاره الکلی اندام‌های هوایی گیاه مرزه بختیاری بر روی تعدادی از میکروب‌ها از جمله باکتری‌های گرم مثبت و منفی و هم‌چنین تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی و کشندگی آن‌ها انجام شد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی

سرشاخه‌های هوایی گیاه دارویی مرزه بختیاری، از مناطق مختلف استان ایلام جمع‌آوری گردید و شناسایی آن‌ها به کمک کارشناسان اداره کل منابع طبیعی استان ایلام انجام شد. این استان در غرب دامنه سلسله جبال زاگرس بین ۳۱ درجه و ۵۸ دقیقه تا ۳۴ درجه و ۱۵ دقیقه عرض شمالی از خط استوا و ۴۵ درجه و ۲۴ دقیقه تا ۴۸ درجه و ۱۰ دقیقه طول شرقی از نصف‌النهار گرینویچ قرار گرفته است.

تهیه عصاره گیاهی مورد استفاده

ابتدا ساقه گیاه مرزه را با آب مقطر استریل شستشو داده شد و سپس آن‌ها را در سایه خشک کرده، سپس ساقه‌های خشک شده با آسیاب برقی آسیاب گردید و پودر حاصله برای عصاره‌گیری استفاده شد. با استفاده از دستگاه عصاره‌گیری سوکسله (Soxhlet) به نسبت ۱ به ۵ (پودر گیاه به الکل اتیلیک ۸۰٪) محلول عصاره تهیه شد. محلول حاصل را در آون

متوسط فعالیت ضد میکروبی به روش آندرو (Andrews, 2001) بررسی شد.

برای تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی یا MIC (Minimal Inhibitory Concentration) و حداقل غلظت کشندگی یا MBC (Minimal Bactericidal Concentration) از روش رقت لوله‌ای (Tube dilution) استفاده شد.

برای تعیین MIC سوسپانسیون سوش‌های باکتریایی از محیط‌کشت ۱۲ ساعته تهیه شده و با کدورت ۰/۵ مک فارلند استاندارد مقایسه شدند. غلظت‌های اولیه‌ی اسانس ۱۰۰ میکرولیتر بود و رقت‌های متوالی تا ۶ رقت تهیه و به میکروچاهک‌های حاوی محیط‌کشت مایع افزوده شدند. به‌طور خلاصه در یک پلیت ۹۶ خانه‌ای به چاهک اول ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتری و سپس به هر کدام از چاهک‌های مذکور از هر رقت عصاره ۱۰۰ میکرولیتر اضافه شد. در ضمن چند میکروچاهک که فقط حاوی سوسپانسیون میکروبی و فاقد عصاره بودند به‌عنوان شاهد در نظر گرفته شدند. سپس این میکروپلیت ۹۶ خانه‌ای به مدت ۲۰ دقیقه شیک شده و به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور با دمای ۳۷-۳۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. بعد از مدت زمان مذکور با مشاهده کدورت حاصله در میکروچاهک‌ها و با توجه به تغییرات کدورت محیط‌کشت مایع و مقایسه با شاهد‌ها MIC تعیین شد. در واقع اولین چاهکی که در آن هیچ رشد میکروبی مشاهده نمی‌شود، به‌عنوان MIC یا حداقل غلظت مهارکننده رشد در نظر گرفته می‌شود. سپس ۲۰ میکرولیتر از هر رقت MIC و چند رقت بالاتر از آن روی محیط‌کشت مولر هینتون آگار منتقل شد. به این ترتیب هر پلیت مختص یک گونه باکتری بود. سپس این پلیت‌ها را به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور قرار داده و بعد از این مدت اولین رقتی که در آن هیچ رشد باکتریایی مشاهده نشد به‌عنوان MBC یا حداقل غلظت کشنده رشد طبق روش کالومه و همکاران (Calomme et al., 1999) تعیین گردید.

این پژوهش به‌صورت آزمایش فاکتوریل دو عاملی در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. فاکتور اول شامل عامل کنترل‌گر (شش غلظت مختلف عصاره گیاهی و دو نوع آنتی‌بیوتیک تتراسایکلین و جنتامایسین) و عامل دوم شامل

چهار سویه باکتری بیماری‌زا بود. برای تجزیه داده‌های حاصل از این تحقیق و مقایسه میانگین قطر هاله عدم رشد، پس از اطمینان از نرمال بودن توزیع فراوانی داده‌ها، از تجزیه واریانس یک طرفه و نرم‌افزار SAS استفاده شد. مقایسه میانگین به روش چنددامنه‌ای دانکن انجام گردید و $p < 0/05$ به‌عنوان سطح معنی‌دار در نظر گرفته شد.

نتایج

نتایج تجزیه واریانس صفت قطر هاله عدم‌رشد حاصل از غلظت‌های مختلف عصاره گیاه مرزه بختیاری و آنتی‌بیوتیک‌های جنتامایسین و تتراسایکلین در حضور باکتری‌های مورد بررسی نشان داد که اثرات اصلی عامل کنترل‌گر باکتری و سویه‌های مختلف باکتری دارای تفاوت معنی‌دار آماری است (جدول ۱).

یک سطح عدم‌استفاده از عصاره هم به‌عنوان شاهد استفاده گردید ولی به‌دلیل داده‌های پرت که کل نتایج آماری و مقایسه‌ها را تحت تأثیر قرار می‌داد، از تحلیل آماری حذف گردید. چون که هدف اصلی این تحقیق مقایسه سطوح مختلف عصاره با آنتی‌بیوتیک بوده است.

اثر عصاره بر روی باکتری *K. pneumoniae* برابر با قطر هاله ۶۶/۳۳-۱۵/۲۱ میلی‌متر بیشتر از تأثیر عصاره بر روی باکتری *E. coli* با قطر هاله عدم رشد ۱۸-۱۰/۶۶ میلی‌متر بوده است. هم‌چنین این عصاره دارای بیش‌ترین اثر بازدارندگی (MIC) و هم‌چنین بیش‌ترین اثر کشندگی (MBC) بر باکتری‌های گرم منفی نسبت به باکتری‌های گرم مثبت بود. در هیچ کدام از پلیت‌هایی که از محتویات لوله‌های کنترل رشد بر روی سطح آن کشت شده بود کلنی مشاهده نگردید. این مسئله در واقع شرایط ایزوله آزمون را نشان می‌دهد. همان‌طور که از جداول ۱، ۲ و ۳ برداشت می‌شود اثر بازدارندگی و کشندگی عصاره بر میکروارگانیزم‌های مختلف متفاوت است. در این تحقیق مشاهده شد که تأثیر نهایی عصاره روی سویه‌های باکتریایی مورد بررسی، وابسته به غلظت عصاره می‌باشد. یعنی با کاهش غلظت عصاره اثر ضدباکتریایی کاهش یافت.

جدول ۱: تجزیه واریانس قطر هاله عدم رشد حاصل از غلظت‌های مختلف عصاره گیاه مرزه بختیاری (*Satureja bachtiarica*) و آنتی‌بیوتیک‌های جنتامایسین و تتراسایکلین در حضور باکتری‌های مورد بررسی

Table 1: Analysis of variance of diameter of inhibition zone from different concentrations of *Satureja bachtiarica* extract and gentamicin and tetracycline antibiotics in the studied of bacteria

میانگین مربعات Mean of squares	درجه آزادی df	منابع تغییرات Sources of variations
قطر هاله عدم رشد Diameter of the zones of inhibition		
689.137**	7	کنترل گر (C) Controller
356.666**	3	سویه باکتری (S) Strain
12.681**	21	کنترل گر × سویه باکتری C × S
0.472	64	خطای آزمایشی Error
4.58	-	درصد ضریب تغییرات CV (%)

** : معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد

** : is significant (p<0.01)

جدول ۲: میانگین قطر هاله عدم رشد حاصل از غلظت‌های مختلف عصاره گیاه مرزه بختیاری (*Satureja bachtiarica*) و آنتی‌بیوتیک‌های جنتامایسین و تتراسایکلین در حضور باکتری‌های مورد بررسی

Table 2: The mean diameter of inhibition zone of different concentrations of extract *Satureja bachtiarica* and gentamicin and tetracycline antibiotics in the studied of bacteria

میانگین قطر هاله (میلی‌متر) Mean diameter of the zones of inhibition (mm)		غلظت عصاره (میلی‌گرم در میلی‌لیتر) Extract concentration (mg/ml)						نام میکروارگانیزم Microorganism name
آنتی‌بیوتیک جنتامایسین Gentamicin antibiotic	آنتی‌بیوتیک تتراسایکلین Tetracycline antibiotic	12.5	25.0	50.0	100.0	200.0	400.0	
15.00 ^d	19.66 ^a	10.66 ^e	12.00 ^f	13.33 ^e	15.00 ^d	16.33 ^c	18.00 ^b	<i>Escherichia coli</i>
13.00 ^e	20.33 ^b	15.66 ^f	17.66 ^e	18.33 ^d	19.00 ^c	20.33 ^b	21.33 ^a	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
19.33 ^a	13.66 ^e	12.33 ^h	12.33 ^f	14.00 ^e	15.33 ^d	16.33 ^c	17.33 ^b	<i>Staphylococcus aureus</i>
20.00 ^a	12.33 ^d	8.00 ^e	9.00 ^f	11.00 ^e	12.00 ^d	13.33 ^c	14.33 ^b	<i>Streptococcus agalactiae</i>

جدول ۳: میزان MIC و MBC عصاره گیاه مرزه بختیاری (*Satureja bachtiarica*) بر روی باکتری‌های مورد بررسی

Table 3: The MIC and MBC of extract *bachtiarica Satureja on the studies bacteria*

میکروارگانیزم Microorganism name	محدوده غلظت بازدارنده MIC	محدوده غلظت کشنده MBC
<i>Escherichia coli</i>	25	100
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	50	200
<i>Staphylococcus aureus</i>	200	400
<i>Streptococcus agalactiae</i>	200	400

بیشتری نسبت به آنتی‌بیوتیک تتراسایکلین بوده است. نتایج به‌دست آمده از حداقل غلظت بازدارندگی و حداقل غلظت کشندگی نیز به ترتیب از رشد بین ۲۵-۲۰۰ و ۴۰۰-۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر متغیر بود که براساس روش رقت لوله‌ای باکتری *E. coli* دارای بیش‌ترین حساسیت بود (جدول ۳).

بحث

عصاره‌های گیاهی در طب سنتی ایران به‌طور وسیعی استفاده می‌شوند. از آن‌جایی‌که گیاهان مفید دارویی در کشور ما فراوان

هم‌چنین مقایسه تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های جنتامایسین و تتراسایکلین نشان داد که در مقایسه با آنتی‌بیوتیک جنتامایسین غلظت‌های مختلف عصاره بر روی باکترهای *E. coli* و *K. pneumoniae* دارای قطر هاله بزرگتری بودند. هم‌چنین این عصاره گیاهی در مهار باکتری‌های گرم مثبت نیز تأثیر داشت هرچند که میانگین قطر هاله عدم‌رشد آن نسبت به باکتری‌های گرم مثبت کمتر بود (جدول ۲). اما مقایسه قطر هاله آن نشان داد که عصاره این گیاه در اکثر غلظت‌های به‌کار رفته دارای قطر هاله عدم رشد

دارای اثرات ضدباکتریایی با درجات متفاوت علیه سویه‌های باکتری می‌باشند و در این مطالعه باکتری *Pseudomonas aeruginosa* به‌عنوان حساس‌ترین سویه و *Bacillus subtilis* به‌عنوان مقاوم‌ترین سویه شناخته شد. که این نتایج در مورد باکتری‌های *Staphylococcus aureus* و *Klebsiella pneumoniae* با نتایج ما هم‌خوانی داشت.

نتایج مطالعات آهانجان و همکاران (Ahanjan et al., 2011) بر روی بررسی تأثیر اسانس مرزه بختیاری روی تعدادی از باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی نشان داد باکتری‌های *E. coli* و *S. aureus* دارای حساسیت بالایی به اسانس این گیاه هستند که با نتایج ما هم‌خوانی داشت. همچنین نتایج تحقیقات سفیدکن و همکاران (2005) در بررسی اثرات ضدباکتریایی مرزه بختیاری در دو مرحله قبل و بعد از گل‌دهی بر روی تعدادی از باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی نشان داد که اثر ضدباکتریایی این‌گونه در مرحله قبل از گل‌دهی بیشتر است. لازم است مطالعات بیشتری در شرایط محیطی *In vivo* انجام شود تا غلظت مؤثر این عصاره بر باکتری‌های موردنظر و سویه‌های بالینی، اثرات جانبی آن‌ها در این غلظت‌های به کار رفته و فرمولاسیون دقیق آن، مورد ارزیابی قرار گیرد تا در نهایت بتوان پس از مراحل تکمیلی این عصاره را به‌عنوان یک داروی جدید ضد میکروبی به دنیا معرفی کرد. همچنین پیشنهاد می‌گردد برای شناخت هرچه بیشتر پتانسیل‌های این گیاه دارویی با ارزش در گام بعدی تأثیر روش‌های مختلف استخراج عصاره بر خواص ضد میکروبی بررسی گردد.

می‌رویند، بررسی اثرات ضد میکروبی آن‌ها می‌تواند گامی مثبت در شناسایی و استفاده بهینه از این ثروت ملی با ارزش باشد صادق‌زاده و همکاران (Sadeghzadeh et al., 2006). تاکنون مطالعات متعددی بر روی ترکیبات اسانس مرزه بختیاری و خواص ضد میکروبی آن گزارش شده است سفیدکن و همکاران؛ و امامی و همکاران (Sefidkon et al., 2005; Emami et al., 2004). بررسی‌هایی که بر روی اجزاء اسانس این گیاه انجام شده است نشان داده که عمده‌ترین اجزاء اسانسی این گیاه ترکیبات فنولی تیمول و کارواکرول بوده است و خواص ضد میکروبی حاصل از این گیاه را می‌توان به وجود این ترکیبات مرتبط دانست.

در تحقیق حاضر عصاره این گیاه دارای بیش‌ترین اثر بازدارندگی (MIC) و هم‌چنین بیش‌ترین اثر کشندگی (MBC) بر باکتری‌های گرم منفی نسبت به باکتری‌های گرم مثبت بود. حساسیت بیشتر باکتری‌های گرم منفی نسبت به عصاره این گیاه احتمالاً به علت وجود ترکیبات فنولی تیمول و کارواکرول در ساختار گیاه است. ترکیبات فنولی مانند تیمول و کارواکرول در باکتری‌های گرم منفی منجر به تجزیه غشا خارجی در باکتری‌های گرم منفی شده، که منجر به انتشار لیپوساکاریدها شده و در نتیجه نفوذپذیری غشا سیتوپلاسمی برای ATP افزایش می‌یابد هیلاندر و همکاران (Helander et al., 1998). نتایج تیموری (Teimori, 2004) در بررسی اثرات ضد میکروبی اسانس مرزه بختیاری بر روی باکتری‌های گرم مثبت *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Micrococcus luteus* و سه باکتری گرم منفی *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella pneumoniae* و

منابع

جهت مطالعه منابع به صفحه‌های ۱۸-۱۹ متن انگلیسی مراجعه شود.