اثر ضد باکتریایی عصاره گیاه شنگ بر *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس، باسیلوس سوبتیلیس، اشرشیا کلی* و *سالمونلا تیفی* در شرایط آزمایشگاهی

فخری شهیدی*[۱]، فریده طباطبایی یزدی[۱]، بهروز علیزاده بهبهانی[۲]، سحر روشنک[۳]، ندا نوروزی[۳]، علیرضا وسیعی[۳]

۱-استاد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
۲- استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران
۳- دانشجوی دکتری گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

***نشانی برای مکاتبه:** **fshahidi@um.ac.ir**

دریافت مقاله: آبان نود و هفت پذیرش برای چاپ:دی نود و هفت

چکیده

سابقه و هدف: *گیاه شنگ با نام علمی Tragopogon graminifolius متعلق به خانواده آستراسه می‌باشد. در طب سنتی از گیاه شنگ برای درمان زخم‌های گوارشی، اختلالات کبدی، خونریزی، عفونت ریوی و زخم‌ها استفاده می‌شود. هدف از انجام این پژوهش، بررسی اثر ضد باکتریایی عصاره گیاه شنگ بر استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس، باسیلوس سوبتیلیس، اشرشیا کلی و سالمونلا تیفی در شرایط آزمایشگاهی بود.*

روش کار: *در این مطالعه تجربی، از روش‌های دیسک دیفیوژن و چاهک آگار (قطر هاله عدم رشد)، حداقل غلظت مهارکنندگی (میکرودایلوشن براث و معرف تری فنیل تترازویلیوم کلراید) و حداقل غلظت کشندگی (پورپلیت) برای ارزیابی فعالیت ضد میکروبی عصاره گیاه شنگ بر استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس، باسیلوس سوبتیلیس، اشرشیا کلی و سالمونلا تیفی استفاده شد.*

یافته ها قطر هاله عدم رشد با افزایش غلظت‌های عصاره شنگ افزایش یافت. بیشترین قطر هاله عدم رشد در روش چاهک آگار با قطر ۲۲ میلی‌متر مربوط به باکتری استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس بود. حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره آبی گیاه شنگ برای استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس، باسیلوس سوبتیلیس، سالمونلا تیفی و اشرشیا کلی به ترتیب برابر با ۶۴، ۲۵۶، ۲۵۶ و ۲۵۶ بود.

نتیجه گیری: *عصاره گیاه شنگ دارای اثر ضد باکتریایی مناسبی بر سویه‌های مورد بررسی داشت. پیشنهاد می‌گردد برای استفاده از این گیاه، مطالعات بیشتری در شرایط in vitro و in vivo انجام گیرد تا بتوان از این گیاه برای درمان بیماری‌های عفونی و کنترل رشد میکروارگانیسم‌های بیماری زا استفاده نمود.*

واژگان کلیدی: ***گیاه شنگ، باکتری‌های بیماری‌زا، عصاره‌گیری، اثر ضد میکروبی***

مقدمه

بر اساس آمار منتشر شده از مرکز کنترل بیماری امریکا سالیانه میکروارگانیسم‌های بیماری زا سبب بروز حدود ۷۶ میلیون مورد بیماری‌های ناشی از مواد غذایی می شوند. میکروارگانیسم‌های عامل عفونت و مسمومیت به وسیله سازوکارهای مختلفی نسبت به داروهای ضدمیکروبی و آنتی بیوتیک های رایج درمانی مقاوم می‌شوند(۱). ایجاد مقاومت میکروارگانیسم‌ها نسبت به عوامل مختلف ضد میکروبی، به عنوان پاسخ مستقیم نسبت به قرار گرفتن در معرض عوامل ضد میکروبی به عنوان یک واقعیت به اثبات رسیده است. سازوکارهایی که باعث مقاومت میکروارگانیسم‌های بیماری زا می‌گردند شامل: تغییر پروتئین هدف از طریق جهش یا فعال سازی آنزیمی، کسب ژن از سایر گونه‌های باکتری که کد کننده پروتئین-های هدف با حساسیت پایین‌تر می‌باشند و کاهش حساسیت با پوشش دهی پروتئین هدف یا بیرون راندن ترکیبات ضد میکروبی از سلول انجام می‌گیرد. این سازگاری‌ها در میکروارگانیسم‌های حساس، می‌تواند در نتیجه جهش‌ها و یا از طریق انتقال افقی ژن به وجود آید که در درجه اول با استفاده از عناصر ژنتیکی متحرک

مانند پلاسمید ها، ترانسپوزون ها یا انتگرون ها توسعه می‌یابد(۲). عوامل موثر بر این توسعه شامل: استفاده نامناسب از آنتی بیوتیک ها، برای مثال استفاده بیش از حد از آنتی بیوتیک‌های قدرتمند با طیف وسیع، حضور آنتی بیوتیک‌ها در صنایع غذایی و دامی و به کارگیری مواد ضد میکروبی در محصولات خانگی است(۲). در نتیجه، بسیاری از میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا در حال حاضر دارای مقاومت چند دارویی هستند. به این معنی که در برابر سه یا چند دسته از داروهای ضد میکروبی مقاوم شده‌اند و در نتیجه درمان آن-ها مشکل ساز است. این موضوع یک تهدید واقعی برای سلامت بشر می‌باشد و به همین دلیل تلاش انسان‌ها برای یافتن عوامل ضد میکروبی جدید ادامه دارد(۲).

استفاده از گیاهان دارویی قدمتی همپای بشر داشته و برای مدت طولانی یکی از مهمترین ابزارهای انسان برای غلبه بر بیماری‌های عفونی بوده است. پس از ظهور پزشکی نوین و استفاده گسترده از داروهای شیمیایی گرایش مردم برخی کشورها به گیاهان دارویی کاهش یافت. عوارض جانبی فراوان داروهای شیمیایی و ناتوانی پزشکی کلاسیک در درمان بیماری‌ها موجب شد که بشر دوباره به استفاده از گیاهان دارویی جهت درمان بیماری‌ها متمایل گردد(۳). اخیرا به دلیل مقاومت و عوارض جانبی که میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا در رویارویی با آنتی بیوتیک‌ها نشان می‌دهند، توجه زیادی به درمان پزشکی با اسانس‌ها، عصاره‌های گیاهی و ترکیبات با خواص بیولوژیکی شده است. ترکیبات ضد میکروبی گیاهان منابع مهم درمانی هستند. به دلیل گسترش بیماری‌های عفونی، اکتشاف بیشتر این چنین ترکیباتی مفید خواهد بود(۴).

گیاه شنگ با نام علمی *Tragopogon graminifolius* از خانواده آستراسه (کاسنی،Asteraceae) است. این گیاه دارای پراکندگی وسیعی بوده، به نحوی که بیش از ۱۰۰ گونه مختلف از گیاه شنگ شناسایی شده و ۲۵ گونه آن درفلورا ایرانیکا وجود دارند. گیاه شنگ از دو کلمه Tragos و Pogon با ریشه یونانی تشکیل شده است. کلمه Tragos به معنی بز و کلمه Pogon به معنی ریش می‌باشد. علت این نامگذاری احتمالاً به دلیل پر مو بودن گیاهان این جنس در دوره دانه‌دار بودن، می‌باشد. این گیاه در جهان با نام های مختلفی شناخته می شود به طوری که در انگلیسی با نام‌های Goat’s beard و Salsify، در عربی با نام لحیهٔ التیس و در فرانسوی با نام Salsifis شناخته می شود(۵).

گیاه شنگ اکثرا در اوایل بهار و تابستان رشد کرده و اغلب دو یا چندساله هستند. برگ‌های انواع گیاه شنگ به شکل کامل، خطی، باریک و اغلب سرنیزه‌ای هستند. حدود ۲۵ نوع شنگ در ایران وجود دارد و برخی از گونه‌های آن منحصرا در کشور ایران وجود دارد. شنگ نی مانند(*Tragopogon caricifolius*)، شنگ میوه خاردار(*Tragopogon acanthocarpus*) و شنگ بی‌سیخک (*Tragopogon erostris*) از جمله گیاهانی هستند که در ایران وجود دارند(۵). بخش‌های هوایی این گیاه در طب سنتی ایرانی به دلیل فعالیت‌های قابض کننده، ضدعفونی کننده، ضد التهاب، دفع سموم، ضد خونریزی و التیام زخم همچنین تقویت معده و کبد و درمان زخم‌های گوارشی، اختلالات کبدی، خونریزی، عفونت ریوی و زخم‌ها استفاده می‌شوند. این گیاه به طور وسیعی در غرب ایران به عنوان سبزی تازه در مواد غذایی و سالادها و همچنین اهداف درمانی مصرف می‌شود(۶و۷).

هدف از انجام این پژوهش، تعیین اثر ضد میکروبی عصاره برگ گیاه شنگ بر *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس، باسیلوس سوبتیلیس، اشرشیا کلی* و *سالمونلا تیفی به* روش‌های متنوع کیفی و کمی در شرایط آزمایشگاهی بود.

روش کار

در این پژوهش تجربی،گیاه شنگ از مراتع کوه‌های زاگرس شهرکرد (چهارمحال و بختیاری) جمع آوری و به گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد انتقال یافت. گیاه شنگ با همکاری هرباریوم و آزمایشگاه سیستماتیک گیاهی پژوهشکده علوم گیاهی، دانشگاه فردوسی مشهد و به شماره نامه (۱۴۷ ه) توسط جناب آقای مهندس جوهرچی شناسایی و تعیین جنس و گونه شد.

پس از تایید نام علمی گیاه شنگ، عمل تمیز کردن و شست و شو سطحی انجام شد. مطابق با روش وسیعی و همکاران (۱۳۹۴)(۸)، گیاه تمیز شده شنگ در دمای اتاق (۲۵ درجه سانتی گراد) خشک گردید و سپس جهت استخراج بهتر عصاره شنگ و برهمکنش آن با حلال مورد نظر (آب مقطر)، عمل پودر کردن گیاه شنگ توسط آسیاب آزمایشگاهی مدل Warning انجام گردید و گیاه پودر شده از الک آزمایشگاهی عبور داده شد. گیاه شنگ توسط روش خیساندن (ماسراسیون) در حلال (آب مقطر) مطابق با دستورالعمل مصرف سنتی گیاه عصاره‌گیری شد. جهت عصاره گیری به روش ماسراسیون (خیساندن) ۲۰ گرم گیاه پودر شده شنگ با ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر مخلوط شده و به مدت ۷۲ ساعت در شیکر در دمای

۲۵ درجه سانتی گراد قرار داده شد. پس از طی ۷۲ ساعت از عمل مخلوط کردن گیاه شنگ و حلال، ابتدا مخلوط گیاه و حلال از پارچه توری تمیز جهت جدا شدن تفاله گیاه عبور داده شد و سپس جهت عصاره گیری از کاغذ صافی واتمن استفاده شد. عمل حاضر ۳ بار با دقت انجام شد تا عصاره شنگ کاملا از تفاله گیاه جدا گردد. عصاره به دست آمده توسط روتاری تغلیظ شده تا حلال به طور کامل حذف گردد. عصاره به دست آمده تا انجام آزمون های ضد میکروبی در شیشه ای که اطراف آن با فویل آلومینیومی پوشیده شده بود در دمای یخچال نگهداری شد. درصد عصاره‌دهی بر اساس وزن خشک گیاه محاسبه گردید(۸).

سویه‌های میکروبی شامل: *استافیلوکوکوس اپیدرمیس* PTCC 1435، *باسیلوس سوبتیلیس* PTCC 1023، *اشرشیا کلی* ATCC 25922 و *سالمونلا تیفی* PTCC 1609 بود. سویه های میکروبی از بانک میکروبی سویه‌های فریز شده در آزمایشگاه میکروبیولوژی صنعتی، دانشگاه فردوسی مشهد تهیه و قبل از انجام آزمون‌های میکروبی از سویه‌ها کشت ۲۴ ساعته تهیه و فعال شدند(۹). برای استاندارد نمودن میزان تلقیح سویه‌های میکروبی استاندارد نیم مک فارلند (۹۹/۵ میلی لیتر اسید سولفوریک ۱ درصد و ۰/۵ میلی لیتر کلرور باریم ۱/۱۷۵)که معادل CFU/ml $۱/۵\times ۱۰^{۸}$ بود، استفاده شد(۱۰).

جهت اعتبار سنجی به نتایج اثر ضد میکروبی عصاره شنگ از انتشار در آگار به کمک دیسک (دیسک دیفیوژن)، چاهک آگار، حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی استفاده شد.

به طور خلاصه در روش دیسک دیفیوژن ابتدا غلظت‌های مختلف ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم از عصاره آبی شنگ تهیه شد. بعد از تهیه غلظت‌های عصاره آبی شنگ مطابق با روش نوشاد و همکاران (۲۰۱۸)(۱۱)، با کمی تغییر دیسک های کاغذی تهیه شده به مدت ۱۵ دقیقه در تماس با هر یک از غلظت های عصاره شنگ که توسط فیلتر سر سرنگی استریل شده بود خیسانده شد. دیسک-های آغشته به غلظت های مختلف عصاره شنگ با فواصل مناسبی که مانع تداخل هاله شود در پلیت ۸ سانتی متر به وسیله پنس استریل؛ قرار داده شد. پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای بهینه رشد باکتری‌های بیماری زا، گرمخانه‌گذاری شدند. ازدیسک فاقد عصاره به عنوان کنترل استفاده گردید. پس از گذشت ۲۴ ساعت از گرمخانه گذاری هاله های ایجاد شده توسط خط کش اندازه گیری شد و به صورت میلی‌متر گزارش گردید

روش چاهک آگار مطابق با روش علیزاده بهبهانی و همکاران (۲۰۱۷)(۱۲)، انجام پذیرفت. در این روش ۶۰ میکرولیتر از رقت-های ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم از عصاره آبی شنگ درون چاهک‌های ایجاد شده با قطر ۶ میلی‌متری روی محیط کشت محیط کشت مولر هینتون آگار که قبلا ۱۰ میکرولیتر سوسپانسیون میکروبی (معادل با استاندارد نیم مک فارلند) به روش کشت سطحی روی آن پخش شده بود، ریخته شد و پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای بهینه (۳۷ درجه سانتی‌گراد) گرمخانه‌گذاری شد

برای تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی رشد عصاره شنگ از روش میکرودایلوشن براث و معرف تری فنیل تترازویلیوم کلراید مطابق با روش انجام شده توسط علیزاده بهبهانی و همکاران (۲۰۱۸)(۱۳)، انجام شد. در این روش به طور خلاصه رقت های متوالی از محلول مادر که دارای غلظت ۵۱۲ mg/ml بود تهیه شد. غلظت های تهیه شده شامل ۲۵۶، ۱۲۸، ۶۴، ۳۲، ۱۶، ۸ ، ۴ و ۱ میلی‌گرم بر میلی-لیتر بود. مطابق با تعریف حداقل غلظت بازدارندگی اولین غلظتی که در آن رشد میکروارگانیسم روی نداده و رنگ قرمز تشکیل نشد (رشد میکروبی با افزودن معرف تری فنیل تترازویلیوم کلراید با غلظت ۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر درون هر یک از خانه ها بررسی می-شود) به عنوان حداقل غلظت مهارکنندگی در نظر گرفته شد.

تعیین حداقل غلظت کشندگی مطابق با روش علیزاده بهبهانی و ایمانی فولادی (۲۰۱۸)(۱۴)، انجام پذیرفت. با استفاده از روش پور پلیت از خانه هایی که در آن تغییر رنگ قرمز مشاهده نشد (از خانه MIC به غلظت های بالاتر) جهت تعیین MBC استفاده شد؛ به این صورت که از این خانه‌ها ۱۰ میکرولیتر بر محیط کشت مولر هینتون آگار، کشت داده شد و پس از ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد، اولین غلظتی که در آن کلنی مشاهده نشد به عنوان حداقل غلظت کشندگی تعیین شد.

برای تمامی عصاره‌های شنگ قبل از بررسی اثر ضد میکروبی، به طور جداگانه هر یک از عصاره‌ها توسط فیلتر سر سرنگی ۴۵/ استریل گرید. جهت اطمینان از استریل بودن عصاره آبی شنگ مقداری از عصاره در پتری دیش حاوی محیط کشت نوترینت آگار کشت شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد گرمخانه گذاری شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها به روش تجزیه واریانس یک طرفه و با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۱۸ انجام شد. برای مقایسه میانگین ها از روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن و در سطح اطمینان ۹۵ درصد استفاده شد.

یافته‌ها

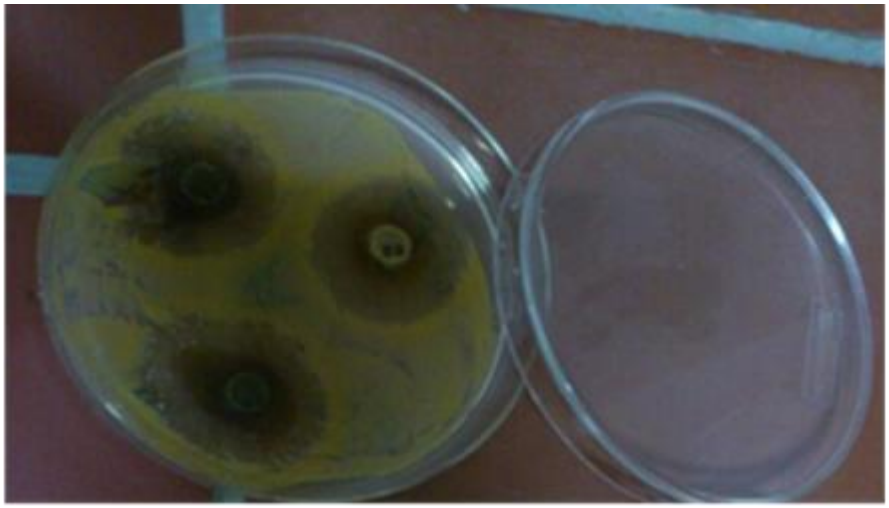
نتایج حاصل از تایید اسم علمی گیاه شنگ نشان داد که گونه‌ی مورد بررسی در این پژوهش متعلق به *Tragopogon graminifolius* بود. بازده عصاره‌دهی آبی گیاه شنگ بر اساس وزن خشک گیاه ۲۳/۸ درصد بود. نتایج بررسی اثر ضد میکروبی

عصاره آبی گیاه شنگ به روش دیسک دیفیوژن در جدول ۱، آورده شده است. در شکل ۱، نمونه‌ای از هاله بازدارندگی عدم رشد عصاره آبی شنگ بر میکروارگانیسم‌های مورد مطالعه نشان داده شده است. نتایج نشان داد بیشترین قطر هاله عدم رشد در غلظت ۴۰۰ میلی-گرم بر میلی‌لیتر مربوط به باکتری گرم مثبت *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* بود. کم ترین هاله بازدارندگی در روش دیسک دیفیوژن در غلظت ۴۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر مربوط به باکتری گرم منفی *اشرشیاکلی* بود.

جدول ۱- میانگین قطر هاله عدم رشد (میلی‌متر) غلظت های مختلف عصاره گیاه شنگ بر *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس*، *باسیلوس سوبتیلیس*، *اشرشیا کلی* و *سالمونلا تیفی* (دیسک دیفیوژن)

سویه های میکروبی	۱۰۰ mg/ml	۲۰۰ mg/ml	۳۰۰ mg/ml	۴۰۰ mg/ml
استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس	-	۸/۲۰±۰/۵۰^{a}	۹/۰۰±۰/۵۰^{a}	۱۶/۳۰±۰/۵۲^{b}
باسیلوس سوبتیلیس	-	-	۷/۴۰±۰/۴۵^{a}	۱۳/۱۰±۰/۵۴^{b}
سالمونلا تیفی	-	-	۷/۰۰±۰/۳۲^{a}	۱۰/۸۰±۰/۲۸^{b}
اشرشیا کلی	-	-	۷/۰۰±۰/۵۵^{a}	۱۰/۵۰±۰/۵۰^{b}

- حروف غیر مشابه نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح معنی داری ۵ درصد میان غلظت‌های مختلف عصاره آبی شنگ است.
- حروف مشابه نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار در سطح معنی داری ۵ درصد میان غلظت‌های مختلف عصاره آبی شنگ است.
- (-) نشان‌دهنده عدم وجود فعالیت ضدمیکروبی عصاره آبی شنگ می‌باشد.



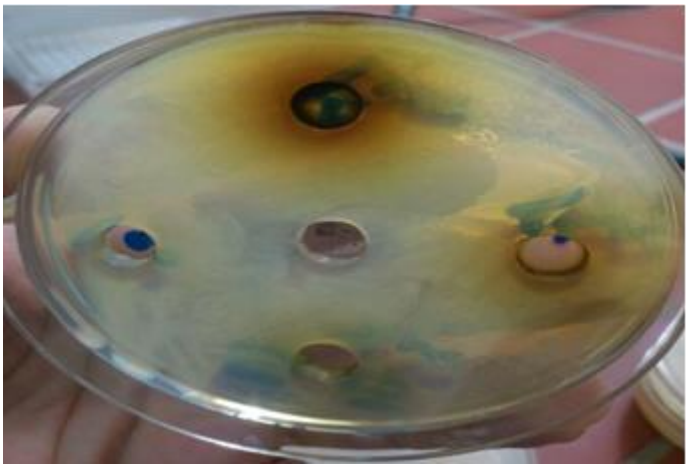
شکل ۱- نمایی از هاله عدم رشد عصاره شنگ به روش دیسک دیفیوژن بر باکتری‌های مورد مطالعه

نتایج حاصل از آزمون چاهک آگار برای سویه‌های *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس*، *باسیلوس سوبتیلیس*، *اشرشیا کلی* و *سالمونلا تیفی* در جدول ۲، آورده شده است. نتایج این آزمون نشان داد که بیشترین حساسیت به عصاره آبی گیاه شنگ مربوط به باکتری گرم مثبت *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* بود. کم ترین حساسیت در برابر عصاره آبی گیاه شنگ نیز برای باکتری گرم منفی *سالمونلا تیفی* مشاهده شد. در شکل ۲، نمونه‌ای از هاله بازدارندگی عدم رشد عصاره آبی گیاه شنگ به روش چاهک آگار نشان داده شده است.

جدول ۲- میانگین قطر هاله عدم رشد (میلی‌متر) غلظت های مختلف عصاره گیاه شنگ بر *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس*، *باسیلوس سوبتیلیس*، *اشرشیا کلی* و *سالمونلا تیفی* (چاهک آگار)

سویه های میکروبی	۱۰۰ mg/ml	۲۰۰ mg/ml	۳۰۰ mg/ml	۴۰۰ mg/ml
استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس	-	۸/۵۰±۰/۵۰^{a}	۱۱/۲۰±۰/۵۵^{b}	۲۲/۰۰±۰/۵۰^{c}
باسیلوس سوبتیلیس	-	۷/۰۰±۰/۲۸^{a}	۸/۱۰±۰/۵۰^{a}	۱۲/۰۰±۰/۲۸^{b}
سالمونلا تیفی	-	-	۹/۱۰±۰/۵۲^{a}	۱۱/۹۰±۰/۵۴^{b}
اشرشیا کلی	-	-	۱۰/۰۰±۰/۵۰^{a}	۱۲/۰۰±۰/۵۰^{b}

- حروف غیر مشابه نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح معنی داری ۵ درصد میان غلظت‌های مختلف عصاره آبی شنگ است.
- حروف مشابه نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار در سطح معنی داری ۵ درصد میان غلظت‌های مختلف عصاره آبی شنگ است.
- (ـ) نشان‌دهنده عدم وجود فعالیت ضدمیکروبی عصاره آبی شنگ می‌باشد.



نتایج حاصل از آزمون حداقل غلظت مهارکنندگی(MIC) عصاره آبی شنگ در جدول ۳، آورده شده است. نمایی از روش میکرودایلوشن براث و معرف تری فنیل تترازویلیوم کلراید برای تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره شنگ در شکل ۳، نشان داده شده است. نتایج حداقل غلظت کشندگی عصاره آبی گیاه شنگ در جدول ۴، آورده شده است.

جدول ۳- نتایج حداقل غلظت بازدارندگی رشد عصاره گیاه شنگ بر استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس، باسیلوس سوبتیلیس، اشرشیا کلی و سالمونلا تیفی

عصاره	سویه های میکروبی	غلظت (میلی‌گرم/ میلی‌لیتر)									
		۵۱۲	۲۵۶	۱۲۸	۶۴	۳۲	۱۶	۸	۴	۲	۱	کنترل
آبی	*استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس*	–	–	–	–	+	+	+	+	+	+	–
آبی	*باسیلوس سوبتیلیس*	–	–	+	+	+	+	+	+	+	+	–
آبی	*سالمونلا تیفی*	–	–	+	+	+	+	+	+	+	+	–
آبی	*اشرشیا کلی*	–	–	+	+	+	+	+	+	+	+	–

(ـ) عدم رشد و (+) رشد میکروارگانیسم

شکل ۳- نمایی از حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره شنگ بر باکتری‌های مورد مطالعه.

جدول ۴- نتایج حداقل غلظت کشندگی عصاره گیاه شنگ بر استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس، باسیلوس سوبتیلیس، اشرشیا کلی و سالمونلا تیفی

سویه های میکروبی	حداقل غلظت کشندگی
استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس	۱۲۸
باسیلوس سوبتیلیس	۲۵۶
سالمونلا تیفی	۲۵۶
اشرشیا کلی	۲۵۶

بحث

استفاده بی‌رویه از آنتی‌بیوتیک‌های مختلف رایج درمانی جهت معالجه بیماری‌های منجر به ظهور میکروارگانیسم‌های مقاوم به یک یا چند آنتی‌بیوتیک شده است. به همین دلیل، علاقمندی به گیاهان دارویی و بومی به عنوان جایگزین برای داروهای سنتزی رو به افزایش است(۱۵). گیاه شنگ، یک گیاه چند ساله‌است که به طور وسیعی در غرب ایران به عنوان سبزی تازه در مواد غذایی، سالادها و همچنین اهداف درمانی مصرف می‌شود(۷). در این پژوهش تاثیر عصاره آبی گیاه شنگ بر *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس*، *باسیلوس سوبتیلیس*، *اشرشیا کلی* و *سالمونلا تیفی* مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که رشد باکتری‌های گرم مثبت *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* و *باسیلوس سوبتیلیس* نسبت باکتری‌های گرم منفی *اشرشیا کلی* و *سالمونلا تیفی* در غلظت‌های پایین‌تری از عصاره آبی شنگ مهار می‌گردد. در بین سویه‌های به کار رفته در این پژوهش، *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* بیش از سایر سویه‌های میکروبی، تحت تاثیر عصاره آبی شنگ قرار گرفت. به طور کلی باکتری‌های گرم منفی نسبت به باکتری‌های گرم مثبت مقاومت بیشتری در برابر عصاره آبی گیاه شنگ از خود نشان دادند. براساس پژوهش‌های مشابه‌ای که توسط سورشجانی و همکاران (۱۳۹۳)(۱۶)، علیزاده بهبهانی و همکاران (۱۳۹۳)(۱۰)، طباطبایی یزدی و همکاران (۱۳۹۳)(۱۷)، محبی و همکاران (۱۳۹۴)(۱۸)، وسیعی و همکاران (۱۳۹۴)(۸)، علیزاده بهبهانی و ایمانی فولادی (۲۰۱۸)(۱۴)، و علیزاده بهبهانی و همکاران (۲۰۱۸)(۱۳)، انجام شده مشخص گردید که باکتری های گرم مثبت نسبت به عصاره و اسانس‌ها حساس‌تر از باکتری گرم‌های منفی هستند. این پژوهشگران علت حساس‌تر بودن سویه‌های گرم مثبت نسبت به باکتری‌های گرم منفی را به دلیل وجود غشاءهای خارجی احاطه کننده دیواره سلولی در باکتری‌های گرم منفی عنوان نموده‌اند. اگرچه بروز فعالیت ضد باکتریایی اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی اغلب بسیار واضح است، اما مکانیسم عمل آن به طور کامل درک نشده است. در مطالعاتی که در بالا به آن اشاره گردید بیان شده است که اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهان دارویی نفوذپذیری غشاء را افزایش داده و با نفوذ در غشاء منجر به متورم شدن غشاءگردیده و فعالیت آن را کاهش داده و در نهایت منجر به مرگ سلول می‌شود.

نتایج حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره آبی گیاه شنگ بر *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس*، *باسیلوس سوبتیلیس*، *سالمونلا تیفی* و *اشرشیا کلی* به ترتیب برابر با ۶۴، ۲۵۶، ۲۵۶ و ۲۵۶ بود. نتایج حداقل غلظت کشندگی عصاره آبی گیاه شنگ بر *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس*، *باسیلوس سوبتیلیس*، *سالمونلا تیفی* و *اشرشیا کلی* به ترتیب برابر با ۱۲۸، ۲۵۶، ۲۵۶ و ۲۵۶ بود. به طور کلی براساس نتایج حاصل از حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی عصاره آبی گیاه شنگ می توان بیان کرد که حداقل غلظت مهارکنندگی همیشه برابر و یا کم‌تر از حداقل غلظت کشندگی می‌باشد و در مطالعه حاضر نیز حداقل غلظت کشندگی باکتری *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* بزرگتر از حداقل غلظت مهارکنندگی بود و در مورد سایر باکتری‌ها حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی برابر بود (جداول ۳ و ۴).

به طور کلی مقایسه دو به دو میان غلظت‌های عصاره آبی گیاه شنگ بر میکروارگانیسم‌های مورد بررسی در این پژوهش نشان داد که میانگین قطر هاله بازدارندگی عدم رشد غلظت‌های مختلف (۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر) عصاره شنگ دارای اختلاف معنی داری داشت و با افزایش غلظت عصاره آبی گیاه شنگ قطر هاله عدم رشد افزایش یافت، اما همانگونه که در جدول ۱، نمایان است بین غلظت های ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر از عصاره آبی گیاه شنگ بر باکتری گرم مثبت *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* اختلاف معنی داری در سطح ۵ درصد مشاهده نشد (روش دیسک دیفیوژن). نتایج آنالیزهای آماری نشان داد در روش چاهک آگار بین غلظت‌های ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر عصاره آبی گیاه شنگ بر باکتری گرم مثبت *باسیلوس سوبتیلیس* اختلاف معنی داری وجود ندارد و در مورد سایر غلظت‌ها و باکتری های دیگر اختلاف معنی دار مشاهد شد. مقایسه نتایج آزمون‌های ضد میکروبی به روش دیسک دیفیوژن و چاهک آگار نشان داد که از آنجایی که در روش چاهک آگار عصاره گیاه شنگ به طور مستقیم در تماس با میکروارگانیسم‌های بیماری زا هست، لذا قطر هاله بازدارندگی در روش چاهک در آگار بیشتر است (جداول ۱ و ۲). نتایج به دست آمده با نتایج سایر پژوهشگران همخوانی داشت(۱۳ و ۱۴).

قاسمی و همکاران (۱۳۹۶)، اثر ضد باکتریایی عصاره هیدروالکلی گیاه شنگ را بر *اسینتوباکتر بومانی* که یک عفونت‌زای مقاوم بیمارستانی است مورد بررسی قرار دارند. این پژوهشگران گزارش دادند که در بیشترین غلظت به کار رفته که ۱۰ میلی‌گرم بر میلی-لیتر بود، قطر هاله عدم رشد برای عصاره آبی فقط ۲ میلی‌متر بود و برای عصاره الکلی مشاهده نشد؛ که نشان‌دهنده مهار رشد بسیار ضعیف عصاره این گیاه بر *اسینتوباکتر بومانی* می‌باشد(۱۹).

طالعی و همکاران (۲۰۰۸)، نشان دادند که عصاره شنگ در غلظت-های پایین‌تر از ۱۹۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر، علیه هیچ کدام از باکتری‌های *انتروکوکوس فکالیس*، *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس*، *سودوموناس آئروژینوزا*، *اشرشیا کلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* خاصیت بازدارندگی ندارد(۲۰).

جهانی و همکاران (۲۰۱۶)، گزارش دادند که حداقل غلظت مهار-کنندگی عصاره شنگ بر *سودوموناس آئروژینوزا* و *اشریشیا کلی*، برابر با ppm۲۵ بود(۴).

یوگور و همکاران (۲۰۰۹)، به شناسایی ترکیبات شیمیایی و ارزیابی فعالیت ضدمیکروبی عصاره گیاه شنگ گونه *oligolepis* که از منطقه کوه ساندراس کشور ترکیه تهیه شده بود، پرداختند. این گیاه به طور طبیعی روی ماسه‌های مرطوب یا دشت‌های سنگی رشد می‌کنند. نتایج این پژوهشگران نشان داد که عصاره الکلی این گونه از جنس گیاه شنگ دارای پتانسیل بالقوه‌ای برای مهار رشد باکتری‌های مقاوم به چند آنتی بیوتیک مانند *سالمونلا* و *استافیلوکوکوس اورئوس* بود(۱۵).

جهانی و همکاران (۲۰۱۶)، به کشف عملکرد برخی از گیاهان دارویی روی باکتری‌های عفونت زا *سودوموناس آئروژینوزا* و *اشرشیا کلی* در انسان پرداختند. در میان این گیاهان، گونه‌ای از جنس گیاه شنگ نیز قرار داشت که در ارتفاعات ۱۴۰۰ متری رشته‌کوه زاگرس رشد می‌کنند. در استان‌های چهارمحال و بختیاری و لرستان از این گونه علاوه بر خواص درمانی، به عنوان ضد التهاب برای آسیب‌ها و صدمات در گوسفندان و بزها نیز استفاده می‌کنند(۴).

مشهدی و همکاران (۲۰۱۶)، در پژوهشی اثر برخی از عصاره‌های گیاهی روی تشکیل بیوفیلم حاصل از باکتری *سودوموناس آئروژینوزا* در شرایط برون‌تنی را مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که عصاره‌های گیاهی مختلف از جمله عصاره برگ گیاه شنگ سرعت تشکیل بیوفیلم را کاهش داد، به طوری که در غلظت‌های ppm ۲۵ ، ۵۰ و ۱۰۰ از عصاره برگ گیاه شنگ هیچگونه بیوفیلمی تشکیل نشد و در سایر مقادیر بیوفیلم تشکیل شده بسیار ناچیز بود(۲۱).

نتیجه گیری

نتایج این مطالعه آزمایشگاهی نشان داد که گیاه شنگ دارای فعالیت ضد باکتریایی مناسبی بر سویه های گرم مثبت (*استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* و *باسیلوس سوبتیلیس*) و سویه های گرم منفی (*اشرشیا کلی* و *سالمونلا تیفی*) در شرایط آزمایشگاهی "*in vitro*" دارد. پیشنهاد می‌گردد برای استفاده از گیاه شنگ، مطالعات بیشتری در شرایط *in vitro* و *in vivo* انجام گیرد تا بتوان از این گیاه برای درمان بیماری‌های عفونی و کنترل رشد میکروارگانیسم‌های بیماری زا استفاده نمود.

تشکر و قدردانی

مقاله حاضر مستخرج از طرح پژوهشی مصوب با کد ۲/۴۴۷۳۸ در دانشگاه فردوسی مشهد می‌باشد. نویسندگان مقاله بر خود لازم می دانند که از معاونت پژوهشی دانشگاه فردوسی مشهد به دلیل مساعدت‌های مالی جهت اجرای این طرح پژوهشی صمیمانه تشکر و قدردانی نمایند.

REFERENCES

1. Khan UA, Rahman H, Niaz Z, Qasim M, Khan J, Tayyaba, et al. Antibacterial activity of some medicinal plants against selected human pathogenic bacteria. European Journal of Microbiology and Immunology. 2013;3(4):272-4.
2. Baltzer SA, Brown MH. Antimicrobial peptides–promising alternatives to conventional antibiotics. Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology. 2011;20(4): 228-35.
3. Igbinosa O, Igbinosa E, Aiyegoro O. Antimicrobial activity and phytochemical screening of stem bark extracts from Jatropha curcas (Linn). African Journal of Pharmacy and Pharmacology. 2009;3(2): 58-62.
4. Jahani S, Saeidi S, Javadian F, Akbarizadeh Z, Sobhanizade A. Investigating the antibacterial effects of plant extracts on Pseudomonas aeruginosa and Escherichia coli. International Journal of Infection. 2016;3(2): 1-4.

5. Bayrami Z, Khalighi-Sigaroodi F, Abdollahi M, Rahimi R, Farzaei M, Hajiaghaee R. A Review of the Medicinal Plants from the Tragopogon Spp. Journal of Medicinal Plants. 2016; 4 (60) :1-13. [Full Text in Persian].
6. Farzaei MH, Abbasabadi Z, Shams-Ardekani MR, Abdollahi M, Rahimi R. A comprehensive review of plants and their active constituents with wound healing activity in traditional Iranian medicine. Wounds. 2014;26(7):197-206.
7. Farzaei MH, Rahimi R, Attar F, Siavoshi F, Saniee P, Hajimahmoodi M, et al. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activity of essential oil and extracts of Tragopogon graminifolius, a medicinal herb from Iran. Natural Product Communications. 2014;9(1):121-4.
8. Vasiee A, Tabatabaei Yazdi F, Mortazavi S. Evaluation of the antibacterial activity of coriander (Coriandrum sativum) on a number of pathogenic microorganisms “in vitro”. Iranian Journal of Infectious Diseases and Tropical Medicine. 2014; 20(71): 59-66. [Full Text in Persian].
9. Kolahi Marand S. Comparison of antimicrobial compounds extracted from the leaves of artichoke (Cynara scolymus) by supercritical fluid and maceration and its effect on the population of microorganisms of food poisoning and infections. MSc Thesis. 2015. Ferdowsi University of Mashhad. [Full Text in Persian].
10. Alizadeh Behbahani B, Tabatabaei Yazdi F, Heidari Sureshjani M, Mortazavi A, Tabatabaei Yazdi F. Antimicrobial effect of the aqueous and ethanolic Satureja bachtiarica extracts “in vitro”, Iranian Journal of Infectious Diseases and Tropical Medicine. 2014; 19(64): 13-9. [Full Text in Persian].
11. Noshad M, Hojjati M, Alizadeh Behbahani BA. Black Zira essential oil: Chemical compositions and antimicrobial activity against the growth of some pathogenic strain causing infection. Microbial Pathogenesis. 2018; 116:153-7.
12. Alizadeh Behbahani B, Shahidi F, Yazdi FT, Mortazavi SA, Mohebbi M. Use of Plantago major seed mucilage as a novel edible coating incorporated with Anethum graveolens essential oil on shelf life extension of beef in refrigerated storage. International Journal of Biological Macromolecules. 2017;94: 515-26.
13. Alizadeh Behbahani B, Yazdi FT, Vasiee A, Mortazavi SA. Oliveria decumbens essential oil: Chemical compositions and antimicrobial activity against the growth of some clinical and standard strains causing infection. Microbial Pathogenesis. 2018;114:449-52.
14. Alizadeh Behbahani B, Fooladi AAI. Evaluation of phytochemical analysis and antimicrobial activities Allium essential oil against the growth of some microbial pathogens. Microbial Pathogenesis. 2018;114:299-303.
15. Ugura A, Sarac N, Ceylan O, Emin Duru M, Okmen G and Varol O. Chemical composition of endemic Tragopogon oligolepis and studies on the antimicrobial activity against multi-antibiotic resistant bacteria. Acta Hortic. 2010; 853: 299-306.
16. Heidari Sureshjani M, Tabatabaei Yazdi F, Mortazavi A, Shahidi F, Inhibitory and Lethal Effects of Aqueous and Ethanolic Extracts of Kelussia odoratissima on Bacillus cereus, Listeria innocua and Escherichia coli "in vitro". Iranian Journal of Infectious Diseases and Tropical Medicine 2014; 18(64): 19-24. [Full Text in Persian].

17. Tabatabaei Yazdi F, Heidari Sureshjani M, Alizadeh Behbahani B. Antimicrobial effects of aqueous and ethanolic extracts of Ferulago angulata on Staphylococcus aureus, Bacillus cereus and Salmonella typhi "in vitro". Iranian Journal of Infectious Diseases and Tropical Medicine. 2014; 19(65): 25-31. [Full Text in Persian].
18. Mohebbat Mohebbi M, Alizadeh Behbahani B, Ansarifar E, Noshad M. Antimicrobial effect of Aloe vera and Chitosan on some pathogenic bacteria and comparing it with common therapeutic antibiotics “in vitro”. Iranian Journal of Infectious Diseases and Tropical Medicine. 2015; 19(67): 21-9. [Full Text in Persian].
19. Ghasemi, M.H ,.R; Sedighi, M; Vakili amini, M; Bagher abadi, Sh, Antimicrobial effect of Sheng hydroalcoholic extract on Acinetobacter baumannii under in vitro. Iranian Journal of Infectious Diseases and Tropical Medicine, 2016. 22(78): 41-5. [Full Text in Persian].
20. Talei GR, Meshkatalsadat MH, Mosavi Z.Antibacterial Activity of Fumaria parviflora Lam, Allium haementhaides, Tragopon carcifolus, Buxus hyrecana pojark and two variant of Thymus native Lorestan. J of GUMS 2008;10(1):31-5.
21. Mashhady MA, Abkhoo J, Jahani S, Abyar S, Khosravani F. Inhibitory effects of plant extracts on pseudomonas aeruginosa biofilm formation. International Journal of Infection. 2016;3(4): 71-81.