Downloaded from jmp.ir at 7:56 +0330 on Monday November 30th 2020

مطالعه‌ی اثر ضدمیکروبی عصاره‌های سنبله‌ای ارغوانی (*Stachys inflata* Benth.) روی انواعی از استافیلوکوکوس‌های مولد جوش در انسان

عذرا عطایی عظیمی[1]*، بهنوش رشیدیان دزفولی[2]، بابک دلنواز هاشملویان[3]

۱- دانشیار، گروه زیست‌شناسی علوم گیاهی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساوه، ساوه
۲- دانشجوی ارشد، گروه زیست‌شناسی علوم گیاهی - عضو باشگاه پژوهشگران جوان دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساوه، ساوه
۳- دانشیار، گروه زیست‌شناسی علوم گیاهی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساوه، ساوه
*آدرس مکاتبه: ساوه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساوه، گروه زیست‌شناسی، صندوق‌پستی: ۳٦٦ – ۳۹۱۸۷
تلفن: ۳ - ۲۲٤۱٥٥۲ (۰۲٥٥)، نمابر: ۲۲٤۰۱۱۱ (۰۲٥٥)
پست الکترونیک: attaei@iau-saveh.ac.ir

تاریخ دریافت: ۸۸/۷/۲۵ تاریخ تصویب: ۸۹/۸/۱۳

چکیده

مقدمه: جوش پوستی از بیماری‌هایی است که باعث ناهنجاری پوست و افسردگی نوجوانان و جوانان می‌شود. عامل این بیماری انواعی از باکتری‌های استافیلوکوکوس است که داروی مؤثری برای درمان آن وجود ندارد. به نظر می‌آید بتوان از گیاهانی مثل سنبله‌ای ارغوانی (*Stachys inflata*) که دارای ترکیبات ضدباکتری هستند، برای درمان جوش‌های پوستی استفاده کرد.

هدف: هدف از این پژوهش جدا کردن عصاره‌های آنتی‌باکتریایی سنبله‌ای ارغوانی، برای درمان جوش‌های پوستی بود.

روش بررسی: در این پژوهش اثر انواع عصاره‌های آبی، الکلی، فنلی گیاه سنبله‌ای ارغوانی روی باکتری‌های استافیلوکوک جوش مطالعه شد. برای انجام این پژوهش، عصاره‌های برگ، ساقه و گل سنبله‌ای ارغوانی قبل از اتوکلاو و باکتری بعد از اتوکلاو به محیط کشت اضافه شد.

نتیجه: نتایج نشان داد که بعضی از غلظت‌های عصاره‌ی آبی گل و برگ سنبله‌ای ارغوانی اثر ضدباکتریای قوی داشته و باکتری را کاملاً از محیط حذف می‌کنند.

بحث: نتیجه‌ی کلی نشان می‌دهد که فعالیت ضدباکتریایی عصاره‌های سنبله‌ای ارغوانی قابل مقایسه با آمپی‌سیلین و دیگر آنتی‌بیوتیک‌ها و حتی در برخی غلظت‌ها از آنتی‌بیوتیک‌ها بیشتر می‌باشد.

گل‌واژگان: سنبله‌ای ارغوانی (*Stachys inflata*)، استافیلوکوک، جوش پوستی، فعالیت ضدمیکروبی

Downloaded from jmp.ir at 7:56 +0330 on Monday November 30th 2020

مقدمه

جوش‌های صورت یا آکنه (جوش غرور) یک بیماری التهابی مزمن پوست می‌باشد که اکثراً در دوره‌ی نوجوانی شروع و در جوانی فرد شایع می‌شود ولی گاهی در سرتاسر زندگی باقی می‌ماند. ظهور جوش در افراد مختلف متفاوت است.

دلیل ظهور جوش‌های پوستی، مسدود شدن ناگهانی غدد چربی ناحیه‌ی پوست به دلایل نامعلوم است. وقتی چربی درون غدد چربی نتواند به بیرون راه یابد، زیر پوست باقی و سبب تجمع باکتری‌هایی مثل استافیلوکوکوس اورئوس و استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس می‌شود که به طور طبیعی در فلور پوست وجود دارند. یکی از عارضه‌های جوش صورت باقی ماندن لکه در محل ظهور جوش به علت فعال شدن سیستم دفاعی و التهاب پوست است.

با اینکه بروز جوش‌ها در صورت و بدن یک بیماری کشنده نیست ولی باعث بروز ناهنجاری در پوست صورت و بدن می‌شود که از زیبایی می‌کاهد. ظهور عارضه‌های پوستی (باقی‌ماندن جای زخم و جوش به صورت لک) باعث بروز عارضه‌های روحی در بسیاری از نوجوانان و جوانان می‌شود. در واقع عدم وجود راه درمان مؤثر و باقی ماندن ناهنجاری و عوارض جای جوش، سبب افسردگی و گوشه‌نشینی جوانان می‌شود [۷ – ۱].

استافیلوکوکوس اورئوس (*Staphylococcus aureus*) و استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس (*Staphylococcus epidermidis*) دو باکتری گرم مثبت هستند. استافیلوکوکوس اورئوس گلوکز را تخمیر کرده و اسید لاکتیک تولید می‌کند. علاوه‌بر آن قادر به تخمیر مانیتول می‌باشد که این ویژگی آن را از استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس مشخص می‌کند. استافیلوکوکوس اورئوس کاتالاز و کوآگولاز مثبت، از فلور طبیعی انسان است که در مجاری عبوری تنفسی، پوست و موکوسی غشایی یافت می‌شود [۸]. این باکتری از عوامل اصلی جوش‌ها، آکنه‌ها، آلودگی و عفونت زخم‌ها بوده و همچنین باعث مسموم شدن غذاها می‌شوند. استافیلوکوکوس اورئوس بیماری‌زا و مهاجم است. این موجود ترکیباتی سمی تولید می‌کند که باعث مرگ گلبول‌های سفید و تب می‌شود. به همین جهت آن را استافیلوکوک تب‌آور (*S. pyogenes*) می‌نامند. استافیلوکوکوس اورئوس از باکتری‌هایی است که به سرعت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها مقاوم می‌شود. این باکتری به آنتی‌بیوتیک متی‌سیلین (Methicillin) مقاوم است به همین جهت به آن مرسا (MRSA) نیز گفته می‌شود.

– استافیلوکوکس اپیدرمیدیس (استافیلوکوک اپیدرمیدیس) کوآگولاز منفی بوده به شکل کلنی‌های سفید روی خون آگار گوسفندی (شیپ بلاد آگار) ظاهر می‌شود [۹].

هر دو استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس و اورئوس از فلور طبیعی پوست انسان و از ریزموجودات تخریب کننده‌ی پوست هستند که انتشار محیطی گسترده‌ای هم دارند ولی واگیری استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس کمتر از اورئوس است [۹].

استفاده از گیاهان دارویی برای درمان بیماری‌ها سابقه‌ی طولانی دارد و هم اکنون در بسیاری از کشورهای پیشرفته به عنوان یک راه اصلی برای درمان به شمار می‌رود. امروزه تقریباً ۳۰ درصد فرآورده‌های دارویی منشای گیاهی دارند [۱۱، ۱۰]. خواص ضدمیکروبی و ضدقارچی عصاره‌های برخی از گیاهان به اثبات رسیده است. عموماً این عصاره‌ها دارای ترکیبات ساپونینی، آلکالوئیدی، ترپنوئیدی، فنلی، اسید چرب و پروتئین هستند و از برگ، ساقه، ریشه و دانه‌ی گیاهان مختلف جدا شده و خواص برخی از آنها به اثبات رسیده است [۱۲،۱۳،۱٤].

اثر ضدباکتریایی اسانس برگ کنگر و زعفران بر هر دو باکتری استافیلوکوکوس اورئوس و استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس ثابت شده است [۱۵]. بیماری‌های عفونی از قدیم گریبان‌گیر انسان بوده و تلاش‌های زیادی جهت شناخت عوامل ایجادکننده، درمان و کنترل آن صورت گرفته است. تقریباً همه‌ی افراد در طول عمر خود به شکلی به عفونت با استافیلوکوکوس اورئوس مبتلا شده‌اند که این عفونت می‌تواند حداقل یک مسمومیت غذایی خفیف یا عفونت‌های پوستی مثل جوش‌های صورت باشد [۱٦].

جنس سنبله‌ای (استاخیس Stachys) از تیره‌ی نعناع دارای گونه‌های گیاهی زیادی در ایران است [۱۷]. گونه‌های این جنس غنی از ترکیباتی هستند که خاصیت ضدالتهاب، ضدمحرک‌های عصبی، ضدباکتری و غیره دارند [۱۸]. یکی از

Downloaded from jmp.ir at 7:56 +0330 on Monday November 30th 2020

گونه‌های سنبله‌ای در ایران، سنبله‌ای ارغوانی یا گوش بزغاله (*Stachys inflata*) است. در طب محلی ایران گیاه دارویی سنبله‌ای ارغوانی، برای درمان بیماری‌های عفونی، التهابی و روماتیسم استفاده می‌شده است [۱۰]. عصاره‌ی متانولی استخراج شده از بخش‌های هوایی آن روی موش‌های صحرایی خاصیت ضدتورم و التهاب داشته و به طور مشخص التهاب را در بافت صدمه یافته کاهش می‌دهد [۲۰، ۱۹].

پژوهش‌ها نشان داده است که اسانس سنبله‌ای ارغوانی علاوه‌بر اثر ضدالتهابی، اثر بازدارندگی خوبی روی رشد استافیلوکوکوس اورئوس دارد که تفاوت آن در مقایسه با آنتی‌بیوتیک توبرامایسین ناچیز است ولی اثر چندانی بر استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس ندارد [۲۲، ۲۱].

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری از جوش، کشت و شناسایی باکتری‌ها

الف- باکتری‌ها مستقیماً از جوش‌های ماکیول صورت (گونه) و بدن (پشت و گردن) افراد بالای ۱۸ سال و کمتر از ۲٤ سال تهیه شد. سطح جوش افراد متقاضی با پنبه‌ی آغشته به الکل ۷۰ درصد تمیز، سپس با نوک سوزن لانست استریل، سر جوش را باز، با فشار محتویات آن را خارج و با سوآب استریل، محتویات جوش به روی محیط کشت مولر هینتون آگار در پتری دیش‌ها انتقال و به مدت ۲٤ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه نگهداری شدند. بعد از ۲٤ ساعت کلنی‌های باکتری به محیط کشت جدید پاساژ و در انکوباتور ۳۷ درجه نگهداری شدند.

ب- ۲٤ ساعت بعد از این پاساژ یک نمونه از هر کشت برای شناسایی به آزمایشگاه تشخیص طبی کوثر ساوه فرستاده شد. باکتری‌های با آزمایش‌های گرم، کاتالاز و نوبیوسین شناسایی شده، برای رشد به محیط جدید واکشت شدند [۳۱، ۳۰].

- **تشخیص اولیه‌ی باکتری‌ها با رنگ‌آمیزی گرم:** در این رنگ‌آمیزی لام گستره‌ی باکتری تهیه، با شعله‌روی لام تثبیت و سپس یک دقیقه با کریستال ویوله (۱ درصد) رنگ و با آب مقطر شستشه شد. بعد باکتری‌ها یک دقیقه با لوگل (۱ درصد) رنگ، سپس شسته شده و با متانول تثبیت شدند. لام خشک و در نهایت با سافرانین (۱ درصد) به مدت ۱ دقیقه رنگ‌آمیزی شد.

- **تشخیص اختصاصی با آزمایش کاتالاز:** در این آزمایش یک قطره آب اکسیژنه‌ی ۳ درصد روی لام ریخته، سپس یک قطره از سوسپانسیون باکتری به آن اضافه و بلافاصله با میکروسکوپ تشکیل حباب‌های اکسیژن مطالعه شد. تشکیل حباب نشان‌دهنده‌ی کاتالاز مثبت بود. در آزمایش کاتالاز هر دو نمونه‌ی باکتری (صورت و گردن) کاتالازمثبت بودند.

- **تشخیص اختصاصی با آزمایش نوبیوسین:** هر یک از دو نمونه باکتری در محیط آگارکشت داده شد و سپس در وسط آن دیسک آنتی‌بیوتیک نوبیوسین گذاشته شد. قطر هاله‌ی عدم رشد برای هر دو باکتری بیش از ۱۷ میلی‌متر بود.

پ- برای تهیه‌ی سوسپانسیون باکتری، در هر بار کشت، در یک لوله‌ی آزمایش حاوی ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر استریل، با فیلدوپلاتین استریل چند بار باکتری را وارد آب مقطر استریل نمودیم تا تعداد باکتری در هر میلی‌لیتر به حدود 10^6 عدد (یک میلیون) رسید. شمارش باکتری‌ها با لام نئوبار انجام گرفت.

ت- برای کشت، پاساژ دادن و افزایش تعداد باکتری از کشت ساده و پخش ساده‌ی باکتری (گستره) روی محیط جامد به وسیله‌ی سوآب استریل، استفاد شد. برای تهیه محیط کشت، ۳/٤ گرم پودر مولر هینتون آگار با ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط و سپس به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۱۲۰ درجه سلسیوس و فشار ۱ اتمسفر اتوکلاو شد.

عصاره‌ی گیاهی قبل از اتوکلاو کردن به محیط کشت اضافه و مخلوط محیط کشت و عصاره اتوکلاو شدند. پس از رسیدن دمای محیط کشت اتوکلاو شده به۵۰ درجه، ۱ میلی‌لیتر سوسپانسیون باکتری به آن اضافه، هم زده و در پتری دیش‌ها تقسیم شد. محیط کشت‌ها بعد از جامد شدن به انکوباتور ۳۷ درجه منتقل شدند.

استخراج عصاره‌های گیاهی

گیاه سنبله‌ای ارغوانی (*Stachys inflata*) را از نواحی خارج شهر ساوه چیده و پودر برگ، ساقه و گل خشک شده‌ی آن در سایه، برای استخراج عصاره‌ها استفاده شد.

الف- عصاره‌ی آبی: ۱۰۰ گرم پودر خشک هر قسمت از گیاه با ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط و بعد از ۱ ساعت در

Downloaded from jmp.ir at 7:56 +0330 on Monday November 30th 2020

بن‌ماری ۶۰ درجه سلسیوس، چند دقیقه هم زدن، صاف و حجم عصاره اندازه‌گیری شد.

ب- عصاره‌ی الکلی: شبیه روش تهیه‌ی عصاره‌ی آبی بود، فقط در آن به جای آب مقطر از الکل اتیلیک ۹۶ درصد استفاده شد.

پ- عصاره‌ی فنلی با هیدرولیز: عصاره‌ی الکلی استخراج و بعد از تبخیر الکل، ماده‌ی خشک در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل و به دو قسمت مساوی در دو ارلن (ارلن شماره‌ی ۱ با هیدروکسید سدیم ۱ نرمال، قلیایی (pH>۸) و ارلن شماره‌ی ۲ با اسید کلریدریک ۱ نرمال، اسیدی (pH<٤)) تقسیم شد. برای هیدرولیز ترکیبات فنلی، هر دو ارلن به مدت ۲۰ دقیقه در بن‌ماری جوش قرار و بعد از سرد شدن، محتویات هر دو ارلن را مخلوط و pH آن به ٦ رسانده شد. سپس به آن به نسبت مساوی اتر اتیلیک اضافه، بعد از هم زدن، بخش اتری از بخش آبی جدا و بعد از تبخیر اتر، ماده‌ی خشک وزن شد.

ت- عصاره‌ی فنلی محلول در آب: عصاره‌ی آبی را چند بار با اتر نفت با حجم برابر شستشو داده تا رنگریزه‌های کلروفیلی، کارتنوئیدی و مواد محلول در چربی از عصاره‌ی آبی جدا و فنل‌های محلول در آب در آن باقی بماند.

برای تعیین غلظت، عصاره‌ها با دستگاه تبخیر در خلاء خشک و وزن آن با ترازوی دقیق اندازه‌گیری شد. غلظت عصاره بر حسب میلی‌گرم در لیتر در حجم کل عصاره‌ی استخراج شده، محاسبه شد.

اثر دادن عصاره‌ها روی باکتری‌ها

اثر دادن عصاره‌ها با دو روش رقیق‌سازی در آگار و روش دیسک‌گذاری انجام شد.

الف- روش مستقیم: غلظت‌های مختلف از هر عصاره وارد محیط کشت باکتری شد. عصاره‌ی آبی در مقادیر ۰ - ۱۰ میلی‌گرم در لیتر یا ۰ - ۰/۰۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر (به مقادیر ۰ ، ۰/۵، ۱، ۲، ٤، ٦، ۸ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر) به محیط کشت‌ها اضافه و برای میکروب‌زدایی، در دمای ۱۲۰ درجه با فشار یک اتمسفر به مدت ۱۵ دقیقه اتوکلاو شد. بعد از اتوکلاو، وقتی دمای محیط کشت اتوکلاو شده به ۵۰ - ۶۰ درجه رسید، به آن ۱ میلی‌لیتر سوسپانسیون باکتری (برابر یک میلیون باکتری) اضافه، مخلوط همگن شده باهم زدن را درون پتری‌های کوچک ریخته و به مدت ٢٤ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه قرار داده شد. بعد از ٢٤ ساعت نتایج بررسی شد.

ب- روش دیسک‌گذاری و مقایسه‌ی اثر باکتریایی عصاره‌های این گیاه با آنتی‌بیوتیک آمپی‌سیلین: برای مقایسه‌ی اثر ضدباکتریایی عصاره‌های این گیاه با آمپی‌سیلین از آزمایشگاه تشخیص طبی کوثر ساوه کمک گرفته شد. در این آزمایشگاه با روش دیسک‌گذاری، اثر غلظت مشابه عصاره‌های گیاه سنبله‌ای ارغوانی با آمپی‌سیلین روی باکتری‌های جوش (با اندازه‌گیری قطر هاله) مقایسه شد.

در هر دو روش بررسی ضدباکتریایی عصاره‌های سنبله‌ی ارغوانی، همه‌ی آزمایش‌ها با سه تا پنج تکرار انجام و ارایه‌ی نتایج میانگینی از این تکرارها است.

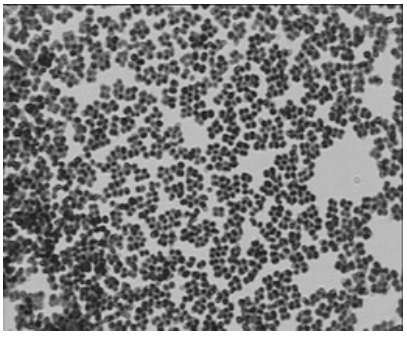
نتایج

تشخیص نوع باکتری

با انجام آزمایش‌های گرم، کاتالاز و نوبیوسین مشخص شد که هر دو نمونه باکتری جوش‌هاپیوست گونه (A) و پوست پشت و گردن (B) باکتری استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس است چون هر دو نمونه باکتری گرم مثبت، کاتالاز مثبت و حساس به آنتی‌بیوتیک نوبیوسین بودند (شکل شماره ۱ و ۲).

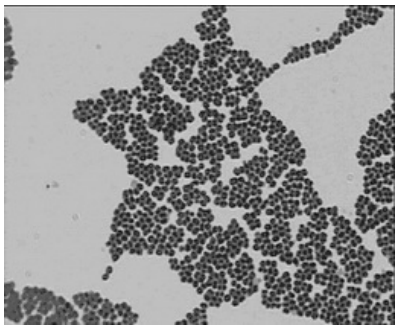
نتایج اثر عصاره‌ها روی باکتری‌ها در محیط کشت (روش رقیق‌سازی در آگار)

۱ - عصاره‌ی آبی روی باکتری A: جدول شماره ۱ یافته‌های مربوط به اثر عصاره‌های آبی بخش‌های هوایی سنبله‌ای ارغوانی روی باکتری جوش صورت را بر اساس درصد کاهش تعداد کلنی‌های باکتری نشان می‌دهد.



Downloaded from jmp.ir at 7:56 +0330 on Monday November 30th 2020

شکل شماره ۱- نمایش باکتری‌های جوش‌های پوستول پوست صورت (A) در رنگ‌آمیزی گرم



شکل شماره ۲- نمایش باکتری‌های جوش‌های پوستول پوست پشت و گردن (B) در رنگ‌آمیزی گرم

الف- گل

غلظت ۱۰ میلی‌گرم در لیتر غلظت مؤثر روی باکتری‌ها بوده و باعث حذف باکتری‌ها در حد ۹۵ - ۹۹ درصد می‌شود. یافته‌ها نشان می‌دهد که با افزایش غلظت تعداد کلنی‌های باکتری در محیط کم می‌شود و در غلظت ۱۰ میلی‌گرم در لیتر به کمترین حد یعنی حدود صفر می‌رسد. با به دست آمدن این نتایج غلظت عصاره به ۱۲ میلی‌گرم در لیتر رسانده شد که منجر به عدم رشد و نابودی همه‌ی باکتری‌ها و کاهش ۱۰۰ درصد کلنی‌ها شد.

برای اینکه مشخص شود، ماده‌ی ضدباکتری در گلبرگ‌ها انباشته می‌شود یا در کاسبرگ‌ها، گلبرگ‌ها و کاسبرگ‌ها را از هم جدا و عصاره‌ی آبی آنها تهیه و روی باکتری‌ها اثر داده شد.

ب- عصاره‌ی آبی گلبرگ

با افزایش غلظت عصاره از ۰ تا ۱۰ میلی‌گرم در لیتر در محیط کشت، در غلظت ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر تعداد کلنی‌های باکتری نسبت به شاهد (غلظت ۰) ٤٥ درصد کاهش نشان دادند ولی بعد از آن شدت کاهش افزایش یافته و در غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر نزدیک به ۱۰۰ و در غلظت ۱۰ میلی‌گرم در لیتر هیچ باکتریی در محیط رشد نکرد و کاهش ۱۰۰ درصد شد.

پ- عصاره‌ی آبی کاسبرگ

کاهش از غلظت ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر شروع شد و در غلظت ٦ میلی‌گرم در لیتر اصلاً هیچ باکتریی رشد نکرد و باعث حذف ۱۰۰ درصد کلنی‌ها شد. با این یافته‌ها می‌توان گفت که ماده‌ی ضدباکتری در هر دو اندام گلبرگ و کاسبرگ انباشته می‌شود ولی انباشتگی آن در کاسبرگ‌ها بیشتر از گلبرگ‌ها است چون عصاره‌ی کاسبرگ‌ها در مقدار کمتری (٦ میلی‌گرم در لیتر به جای ۱۰ میلی‌گرم در لیتر گلبرگ) اثر بازدارندگی ۱۰۰ درصد داشت.

Downloaded from jmp.ir at 7:56 +0330 on Monday November 30th 2020

جدول شماره ۱- نمایش اثر بازدارنده‌ی عصاره‌های آبی اندام‌های هوایی گیاه سنبله‌ای ارغوانی بر باکتری A براساس درصد باقیمانده‌ی کلنی‌های باکتری در محیط کشت

اندام / *mg/l	۰	۰/۵	۱	۲	٤	٦	۸	۱۰	۱۲
کل گیاه	۱۰۰ (٪)	٤٥ (٪)	۲٤ (٪)	۱/٦ (٪)	۲ (٪)	۱ (٪)	۰/٤٤ (٪)	۰/۷ (٪)	۰ (٪)
گلبرگ	۱۰۰	٥٥	۳۰	۲/۸	۲/٥	۱/٥	۰/۳	۰	۰
کاسبرگ	۱۰۰	٤۲	۲/۷	۲	۱	۰	۰	۰	۰
برگ	۱۰۰	٥۲	٤۰	۰/٥	۰/٤	۰/۲	۰	۰	۰
ساقه	۱۰۰	۸۰	٥٤	۲۲	۲۰	۰/۰۱	۰	۰	۰

* mg/l مقدار عصاره بر حسب میلی‌گرم در لیتر محیط کشت

ت- عصاره‌ی برگ سنبله‌ای ارغوانی

مشاهدات نشان داد که با افزایش غلظت عصاره‌ی آبی برگ، رشد باکتری‌ها کاهش یافته و در غلظت ٦ میلی‌گرم در لیتر به نزدیک صفر می‌رسد. در غلظت ۸ میلی‌گرم در لیتر این اثر بازدارندگی به ۱۰۰ درصد رسیده و تعداد کلنی‌ها کاملاً صفر می‌شود.

ث- عصاره‌ی آبی ساقه

در غلظت ۲ میلی‌گرم در لیتر باعث کاهش شدید باکتری‌ها و در غلظت ٦ میلی‌گرم در لیتر با کاهش بیش از ۹۹ درصد کلنی‌های باکتری تقریباً سبب حذف کامل باکتری‌ها (نزدیک به صفر) شد.

۲- عصاره‌های آبی روی باکتری نوع B

نتایج اثر عصاره‌های آبی گیاه سنبله‌ی ارغوانی روی باکتری نوع B بسیار شبیه به نتایج اثر این عصاره‌ها روی باکتری نوع A بود ولی تنها مورد تفاوت بالا بودن غلظت مؤثر در حدود ۲ میلی‌گرم نسبت به باکتری نوع A بود (جدول شماره ۲).

اثر عصاره‌ی ساقه‌ی سنبله‌ی ارغوانی روی باکتری B تا غلظت ٦ میلی‌گرم در لیتر ناچیز ولی در غلظت ۱۰ میلی‌گرم در لیتر به شدت افزایش یافت و کلنی‌های باکتری ۹۸ درصد کاهش داشتند.

۳- عصاره‌های الکلی سنبله‌ای ارغوانی

عصاره‌ی الکلی سنبله‌ای ارغوانی با همان مقادیر عصاره‌ی آبی به محیط کشت اضافه شد ولی اثرات ضدباکتریایی آن روی هر دونوع باکتری A و B (حتی عصاره‌ی الکلی گلبرگ و کاسبرگ) بسیار ناچیز و غیرقابل توجه بود. در کل حدود ۸۰ - ۹۵ درصد کلنی‌ها باقی و فقط ۵ تا ۲۰ درصد کلنی‌ها از بین رفتند. عصاره‌ی الکلی برگ سنبله‌ای ارغوانی با غلظت ۱٤ میلی‌گرم در لیتر بر روی باکتری نوع B، باعث نابودی ۹۹ درصد کلنی‌ها و باقی ماندن فقط ۱ درصد شد.

٤- عصاره‌ی فنلی هیدرولیزی

ابتدا عصاره‌ی فنلی از نمونه‌هایی از عصاره‌هایی که اثر بازدارنده روی باکتری داشتند استخراج و مشخص شد که عصاره‌ی ۰/٦ میلی‌گرم در لیتر آن که از ۱٤ میلی‌گرم عصاره‌ی خشک الکلی برگ جدا شده بود و غلظت آن ۰/٦ میلی‌گرم در لیتر بود روی هر دو نوع باکتری اثر مشابه داشته و توانایی از بین بردن ۹۵ درصد کلنی‌های باکتری را دارد. فقط ۵ درصد کلنی‌های باکتری در محیط کشت باقی بودند.

۵- عصاره‌ی فنلی محلول در آب

این عصاره در شرایط بازی زرد رنگ و در شرایط اسیدی صورتی بود. این تفاوت رنگ در محیط اسیدی و بازی نشان‌دهنده‌ی حضور آنتوسیانین‌های فنلی در این محلول است. این عصاره از همه‌ی قسمت‌های گیاه سنبله‌ای ارغوانی جدا و در همان غلظت وارد محیط کشت شد ولی فاقد اثر بازدارندگی رشد روی هر دو نوع باکتری بود و باعث تشکیل کلنی‌های بزرگ‌تر باکتری در محیط کشت شد.

Downloaded from jmp.ir at 7:56 +0330 on Monday November 30th 2020

جدول شماره ۲- اثر بازدارنده‌ی عصاره‌های آبی اندام‌های هوایی گیاه سنبله‌ای ارغوانی بر باکتری B براساس درصد باقیمانده‌ی کلنی‌های باکتری در محیط کشت

اندام / *mg/l	۰	۲	٤	٦	۸	۱۰	۱۲
کل	۱۰۰ (٪)	۹۰ (٪)	۳۰ (٪)	۱/۸ (٪)	۲ (٪)	۱ (٪)	۰ (٪)
گلبرگ	۱۰۰	٦۰	۳۰	۲/۸	۳	۲	۰
کاسبرگ	۱۰۰	۵۲	۲/۷	۲	۱	۰	۰
برگ	۱۰۰	٦۵	۳۵	۲	۱	۱	۰
ساقه	۱۰۰	۹۵	۹۰	۸۰	۱۵	۲	۰

* mg/l مقدار عصاره بر حسب میلی‌گرم در لیتر محیط کشت

- دیسک‌گذاری عصاره‌ها و مقایسه با آمپی‌سیلین

برای دیسک‌گذاری آمپی‌سیلین و هر عصاره، از ۹ دیسک ۱۰ میکروگرمی استفاده و نتایج بر اساس قطر هاله‌ی عدم رشد باکتری بررسی شد (جدول شماره ۳).

دیسک‌گذاری آمپی‌سیلین روی محیط به تشکیل هاله‌هایی به قطر ۱۷/۲ میلی‌متر برای باکتریA و ۲۰ میلی‌متر برای باکتری B منجر شد.

عصاره‌هایی آبی برگ، کل گیاه و گلبرگ: در دیسک‌گذاری با روش دوم، قطر هاله‌ی عدم رشد باکتری در اطراف دیسک عصاره‌های آبی برگ، گل و گلبرگ سنبله‌ای ارغوانی برای هر دو نوع باکتری به ۱۷ – ۱۷/۲ میلی‌متر رسید.

عصاره‌ی آبی کاسبرگ: هاله‌ی عدم رشد باکتری در دیسک‌گذاری با عصاره‌ی آبی کاسبرگ برای باکتری A به قطر ۲۱/۱ میلی‌متر و برای باکتری B به ۱۹/۸۵ میلی‌متر رسید.

عصاره‌ی آبی ساقه روی هر دو باکتری بی‌اثر و هاله‌ی عدم رشد باکتری در اطراف آن تشکیل نشد.

در بین عصاره‌های الکلی، فقط عصاره‌ی الکلی برگ اثر داشت و هاله‌هایی به قطر ۲۰/۲٤ میلی‌متر روی باکتری A و ۲۰/۰۱ روی باکتری B ایجاد کرد.

مقایسه‌ی آماری نشان داد که اثر عصاره‌های آبی کل گیاه، گلبرگ روی باکتری A با آمپی‌سیلین در یک سطح ولی روی باکتری B کمتر از آمپی‌سیلین است. عصاره‌ی آبی کاسبرگ روی جلوگیری از رشد باکتری A بیشتر از آمپی‌سیلین ولی روی باکتری B مشابه است. عصاره ی الکلی برگ اثری مشابه آمپی‌سیلین داشت (جدول شماره ۳).

بحث

محیط کشت مولر هینتون آگار برای هر دو استافیلوکوکوس اورئوس و اپیدرمیدیس مطابق گزارش برخی پژوهشگران [۲۳،۲٤] مناسب بود اگر چه گزارش‌هایی نیز از استفاده‌ی محیط‌های بلاد آگار و نوترینت آگار برای کشت این باکتری‌ها وجود دارد [۲۵،۲٦،۲۷].

نوع باکتری مولد جوش مطابق گزارش آزمایشگاه تشخیص طبی کوثر استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس بود که با مشخصه سفید بودن کلنی و اجتماعات انگوری این باکتری مطابقت می‌کند [۷ – ۱]. عصاره‌های آبی بخش‌های هوایی سنبله‌ای ارغوانی روی دو نوع خالص با کلنی‌های کوچک سفید رنگ ازجوش‌های پوستول پوست صورت (A) و پوست پشت و گردن (B) اثر ضدمیکروبی داشتند که با اندک گزارش‌های در دسترس همسانی دارد [۲۱]. اثر عصاره‌ی ساقه کم ولی اثر عصاره‌های دیگر به ویژه کاسبرگ بالا بود. عصاره‌ی الکلی به جز عصاره‌ی برگ روی باکتری (B) تقریباً بی‌اثر بود. از عصاره‌های فنلی هیدرولیزی و محلول در آب فقط عصاره‌ی برگ اثر ضدمیکروبی روی باکتری گردن و پشت داشت.

Downloaded from jmp.ir at 7:56 +0330 on Monday November 30th 2020

جدول شماره ۳- مقایسه آماری اثر آمپی‌سیلین و عصاره‌های اندام‌های هوایی گیاه سنبله‌ای ارغوانی بر دو باکتری A و B با روش دیسک‌گذاری و براساس قطر هاله‌ی عدم رشد باکتری برحسب میلی‌متر

باکتری / ماده	A	B
آمپی‌سیلین	۱۷/۲ c	۲۰ b
کل - آبی	۱۷ c	۱۷/۰۳ c
گلبرگ - آبی	۱۷/۲ c	۱۷/۱ c
کاسبرگ - آبی	۲۱/۱ a	۱۹/۸۵ b
برگ - آبی	۱۷/۲c	۱۷/۱ c
برگ - الکلی	۲۰/۲٤ b	۲۰/۰۱ b

در این پژوهش برای اولین بار از روش اضافه کردن عصاره‌ی گیاه به محیط کشت استفاده شد که با نتایج حاصل می‌توان گفت که مواد ضدباکتری گیاه سنبله‌ای ارغوانی مقاوم به دما هستند.

در روش دیسک‌گذاری مشخص شد که بیشتر عصاره‌های به دست آمده روی باکتری‌های مورد مطالعه اثر بازدارنده دارند. در این روش اثر این عصاره‌ها با آمپی‌سیلین مقایسه شد و مشخص شد که اثر میکروب‌کشی عصاره‌های گیاه سنبله‌ی ارغوانی در حد و یا حتی بالاتر از آمپی‌سیلین است.

بررسی کلی نتایج نشان می‌دهد که اثر میکروب‌کشی عصاره‌های آبی کل گیاه، گلبرگ، برگ و کاسبرگ برای هر دو نوع باکتری در روش رقیق‌سازی (جداول شماره ۱ و ۲)، با روش دیسک‌گذاری (جدول شماره ۳) مطابقت دارد ولی عصاره‌ی آبی ساقه که در روش رقیق‌سازی اثری مشابه گلبرگ و برگ داشت، در روش دیسک‌گذاری بی‌اثر است. این نتیجه می‌تواند ناشی از افزایش مواد ضدباکتریایی ساقه با دما باشد. اگر چه اثر میکروب‌کشی در اکثرعصاره‌های الکلی در هر دو روش رقیق‌سازی و دیسک‌گذاری مشاهده نشد ولی عصاره‌ی الکلی برگ در روش دیسک‌گذاری اثری مشابه آمپی‌سیلین نشان داد. شاید این نتیجه نشان دهنده‌ی مواد ضدباکتری حساس به دما در برگ باشد که در روش رقیق‌سازی با اتوکلاو تجزیه می‌شود.

با توجه به این شواهد، می‌توان احتمال داد که چندین گروه از مواد بازدارنده‌ی رشد باکتری، در اندام‌های مختلف این گیاه وجود دارد که حساسیت آنها به دما متفاوت است.

از نظر اثر عصاره‌ها روی دو باکتری جوش گونه و پشت و گردن تفاوت‌های جزئی مشاهده شد. با توجه به یافته‌های حاصل می‌توان گفت که عصاره‌های گیاه سنبله‌ی ارغوانی اثر باکتری‌کشی قوی دارند.

بروز جوش‌های صورت و بدن به طور همزمان با بلوغ جنسی و به علت بسته شدن غدد چربی پوست در ناحیه‌ی صورت و گردن، پوست و کمر است که همراه با التهاب و تورم و سرخی و عفونت ناشی از حضور باکتری‌های مختلف مثل استافیلوکوکوس اورئوس و اپیدرمیدیس است. با توجه به آنچه گفته شد باید از داروئی برای پیشگیری و درمان این ناهنجاری پوست استفاده کرد که سمی و مضر نباشد، خاصیت ضدباکتریایی داشته باشد، ضدالتهاب و تورم باشد، باعث نرمی و کشش‌پذیری پوست و باعث جلوگیری از بسته شدن منافذ چربی شود و در نهایت روی هورمون‌های جنسی اثر داشته باشد. گیاه سنبله‌ی ارغوانی این خواص را دارد. در این پژوهش برای اولین بار در دنیا، اثر عصاره‌های این گیاه روی باکتری‌های جوش مطالعه شده است. از آنجایی‌که هم‌اکنون در دنیا از عصاره‌های گیاهی به عنوان داروهای ضدمیکروبی سالم و ایمن برای درمان عفونت‌ها، التهاب، دهان شویه و ضدعفونی‌کننده‌ی زخم‌ها استفاده می‌شود [۲۹] و با توجه اثر بازدارنده‌ی عصاره‌های این گیاه روی رشد باکتری‌های مولد جوش که در این پژوهش به دست آمد، می‌توان از عصاره‌های آن‌ها پمادهای مؤثر ضدجوش، التهاب و ترمیم‌کننده تهیه و از

بروز ضایعات جوش‌های پوستی، اثرات روانی آن بر نوجوانان و جوانان و صرف هزینه‌های گزاف بی‌اثر جلوگیری کرد.

منابع

1. http://daneshnameh.roshd.ir/marara.

2. http://www.tebyan.net/advertisement.

3. http://www.irandema.com/o.zargari.htm.

4. http://www.irdrug.com/index.html.

5. http://www.acne.com/treatment/proactive,php.

6. http://www.skncarephysicians.com/acnenet.

7. http://www.aad.org/findaderm.

8. http://biomarker.cdc.go.kri8080/pathogen-view-en.

9. http://www,buddycom/bacteria/gpc/staphmr41g.jpg.

10. Delnavaz Hashemloian B. and Azra Ataei Azimi, Properties of Medicinal and Edible plants, Islamic Azad university publishers, 2008, p: 175 -6.

11. Sindambiwe JB, Calimme M, Cos p, Totte J and Pieters L. Medicinal plants, *Journal of Ethnopharmacol.* 1999; 65: 71 - 7.

12. Ataei Azimi A, Delnavaz Hashemloian B and Mansor Ghanaie A. Antifungal effects of water, alcohlic and phenolic extracts of seeds and leaves of *Sorghum bicolor* on *Fusarium solani* and *F. poae*, *J. Medicinal Plants* (*anti-microbial plants*), 2007; 6 (1): 26 - 32.

13. Ziai SA, Hamkar R, Nooroz-Babaei Z, Adibi L. Antiviral effect Assay of 25 species of various medicinal plants in Iran, *J. Med. Plants* (*anti-microbial plants*), 2007; 6 (1): 1 – 9.

14. Meruelo D, Lavie G and Lavie D. Therapeutic agents with dramatic antiretroviral activity and little taxicity as effective doses: aromatic polycyclic diones hypericin and pseudohypericin, *Proc, Natl. Acad*. Sci, 1988; 85: 5230 - 6.

15. Amiri H. Chemical composition and antibacterial activity of essential oil of *Allium jesdianum* from Iran, *J. Med. Plants* (*anti-microbial plants*), 2007; 6 (1): 39 - 44.

16. Hughes BA, Lawson L. Antimicrobial effects of *Allium sativum* L. garlic compounds, *Phytother Res*. 1991; 5: 154 - 8.

17. Ghahraman A. Cromophytes of Iran, Markaz Nashre Daneshgahi, 2003, 2: 290, 249, 169, 122, 116.

18. Rezazadeh S, Kebryaeezadeh A and Pirali- Hamedani M. Anti – inflammatory and analgestic activity of methanolic extracts of *Stachys*, *DARU* 2005; 13: 4: 165 – 9.

19. Javidnia K, Mojab F and Mojahedi SA. Chemical constituent of essential oil of *Stachys Lavandulifolia* Vahi from Iran, *Iranian Journal of Pharmaceutical Res.* 2004; 3: 61 – 3.

20. Maleki N, Garjani A, Nazemih H and Nilfouroushan potent antii-inflammatory activities of hydroalcohlic extracts from aerial parta of *Stachys inflata* on rats, *J. Ethnopharmacol.* 2001; 75: 213 – 8.

21. Morteza – Semnani K, Akbarzadeh M and Changizi S. Essential oils composition of *Stachys byzantina*, S. inflata, S. lavandulifolia and S. laxa from FIran, *Flavour and Fragrance J.* 2006; 21 (2): 300 - 3.

22. Baver AW, Kirby WM, Shreeis JC and Truk M. Antibiotic susceptibility by standardized single method, *Am. J. Chin. Phathol*. 2000; 45: 493 - 6.

Downloaded from jmp.ir at 7:56 +0330 on Monday November 30th 2020

Downloaded from jmp.ir at 7:56 +0330 on Monday November 30th 2020

23. Vlientink AJ and Van Hoof L. Screening of a hundered medicinal plants for antimicrobial properties, *J. Ethnopharmacol*. 1995; 46: 31 - 47.

24. Abbasi N, Azizi Jalilian F, Adabi M. Saifmanesh M. A compractive study of antimicrobial of *Scrophularia strata*, *J. Med. Plants* (*anti-microbial plants*), 2007; 6 (1): 10 - 8.

25. Bonyadian M, Moshtaghi H. The effects of some herbs essential oil on S. aureus in feta cheese, *J. Med. Plants* (*anti-microbial plants*), 2007; 6 (1): 19 - 25.

26. Cowan MM. Plant products as antimicrobial agents. *Clin. Microbiol. Rev*. 1999; 12: 564 – 82.

27. Kalemba D, Kunicka A. Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Curr. Med. Chem.* 2003; 10: 813 – 29.

28. Palombo E. A. Traditional Medicinal Plant Extracts and Natural Products with Activity Against Oral Bacteria. *Evid Based Complement Alternat Med. Rev*. 2009; 2: 1 – 15.

29. National Committee for Clinical Laboratory Standard**s** Methods for antimicrobial susceptibility testing of anaerobic bacteria, 5th ed. *National Committee for Clinical Laboratory Standards*, Wayne, Pa. 2001, pp: 1 – 16.

30. Otto M, "Staphylococcus epidermidis - the 'accidental' pathogen", *Nature Reviews Microbiol.* 2009; **7** (8): 555 - 67.

The Study of Antibacterial Activities of *Stachys inflata* Benth. Extracts on some *Staphylococus* Species of Human Skin Eruption

Ataei Azimi A (Ph.D.)[1]*, Rashidian Dezfooly B (B.Sc.)[2], Delnavaz Hashemloian B (Ph.D.)[1]

1- Department of Biology, Islamic Azad University of Saveh, Saveh, Iran
2- Department of Young Researchers, Islamic Azad University of Saveh, Saveh, Iran
*Corresponding author: Department of Biology, Islamic Azad University of Saveh, Saveh, Iran, P.O.Box: 39187-366
Tel: +98 – 255 – 2241552 – 3, Fax: +98 – 255 – 2240111
E-mail: attaei@iau-saveh.ac.ir

Downloaded from jmp.ir at 7:56 +0330 on Monday November 30th 2020

Abstract

Background: Skin eruption is a disease that it is because of skin necrosis and adolescence and youth depression. The some species of *Staphylococcuss* are agent of this disease. There isn't effective drug for curing of this disease. Many of medicinal plants (e.x. *Stachys inflata* Benth.) have anti- bacterial compounds and they can be used as a drug to cure skin eruption disease.

Objective: This research was done to evaluate the antibacterial effect of *Stachys inflate* extract.

Methods: In this study, anti-bacterial effect of water, alcoholic, phenolic extracts of *Stachys inflate* (Labiatae.) on Staphylococcal skin eruption was Investigated.
Effect of different concentrations extracts of *Stachys inflata* leaf, stem and flower was tested by to add in medium culture of *Staphylococcuses* of skin eruption before autoclaving and bacteria was added in medium culture after autoclaving.

Results: The results showed that some concentration of water extracts of *Stachys inflata* flower and leaves have strong anti-microbial effects. They deleted complete *Staphylococcuses* of skin eruption in growth medium.

Conclusion: Anti-bacterial activities of *Stachys inflata* was analogous with ampiciline, and than some was better.

Keywords: Anti-bacterial activities, *Stachys inflata*, *Staphylococcuss,* Skin eruption