مقاله پژوهشی

بررسی اثرات ضد میکروبی اسانس دو گونه گیاه گل گندم (Centaurea) بر روی باکتری‌های نوع پاتوژن *استافیلوکوکوس اورئوس*، *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* و *اشریشیا کلی* جدا شده از نمونه‌های بالینی

هایده مبین [۱]، ابوالفضل جعفری ثالث [۲*]، جواد سیاحی [۲]

۱-گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، تبریز، ایران
۲- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اهر، باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، اهر، ایران

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۴/۰۴/۲۶ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۴/۰۸/۲۴

چکیده

زمینه و هدف: بروز مقاومت‌های دارویی علیه داروهای ضد میکروبی شیمیایی، سبب توجه به استفاده از گیاهان دارویی در درمان عفونت‌ها شده است. هدف از این تحقیق بررسی اثرات ضد میکروبی اسانس دو گونه گل گندم بر روی سه گونه باکتریایی مقاوم به آنتی بیوتیک جدا شده از نمونه‌های بالینی می‌باشد.

مواد و روش‌ها: گیاهان مورد آزمایش از شهرستان مرند در استان آذربایجان شرقی ایران جمع آوری شد و توسط گیاه شناسان سازمان جهاد کشاورزی، به عنوان گل گندم (Centaurea depressa M.B.) و گل گندم آبی (Centaurea cyanus L.) مورد تایید واقع شدند. اسانس آن‌ها (ساقه و برگ) به روش تقطیر با بخار آب به وسیله‌ی کلونجر استخراج و بررسی اثرات ضد میکروبی اسانس با روش انتشار چاهکی بر باکتری‌های مذکور انجام گرفت. ترکیبات اسانس‌های مورد مطالعه با تزریق در دستگاه کروماتوگرافی گازی متصل به طیف سنجی جرمی (GC/Ms) مشخص گردید.

نتایج: نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که اسانس هر دو گیاه مورد بررسی اثر میکروب کشی دارد. در این بین بیشترین اثر روی سویه‌ی اشریشیاکلی می‌باشد و نتایج حاصل از GC/MS از اسانس گل گندم ۲۸ ترکیب و از اسانس گل گندم آبی ۳۲ ترکیب شناسایی شد.

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که می‌توان علف‌های هرز را در گروه گیاهان دارویی با خواص آنتی باکتریال در نظر گرفت. می‌بایست اثرات آن‌ها در شرایط In vivo ارزیابی شود و برای مصرف نمودن آن‌ها به عنوان جایگزینی برای داروهای شیمیایی معمول در درمان عفونت‌ها، مواد موثره آن‌ها به دقت مشخص شود.

کلمات کلیدی: **اسانس، گل گندم، کروماتوگرافی گازی متصل به طیف سنج جرمی، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس*، *اشریشیا کلی***

مقدمه

جنس استافیلوکوکوس به سهولت در بسیاری از محیط‌های کشت رشد کرده و از نظر متابولیک فعال هستند. دو گونه *استافیلوکوکوس اورئوس* (Staphylococcus aureus) و استافیلوکوکوس اپیدرمایدیس (Staphylococcus epidermidis) به دلیل قدرت بیماری زایی (Pathogenesis) بالقوه و مقاومت روز افزون در برابر داروهای ضد میکروبی به یکی از مشکلات بهداشتی مهم در جهان تبدیل شده است. *استافیلوکوکوس اورئوس* می‌تواند با تولید آنزیم‌های بتا لاکتاماز (Beta-lactamase) نسبت به پنی سیلین (Penicillin) مقاوم شود. مقاومت به متی سیلین (Methicillin)، نشان دهنده‌ی مقاومت به تمامی پنی سیلین‌های مقاوم به پنی سیلینیاز و سفالوسپورین‌ها (Cephalosporins) می‌باشد (۱ و ۲). علی رغم درمان آنتی بیوتیکی، عفونت‌های ناشی از این باکتری‌ها عوارض شدیدی از خود به جا می‌گذارد، بنابراین جلوگیری از بروز عفونت‌های ناشی از این باکتری و ریشه یابی کانون‌های انتشار آن در بیمارستان‌ها از مسائل ضروری است. استافیلوکوکوس اورئوس و اپیدرمایدیس سبب ایجاد طیف وسیعی از بیماری‌ها از جمله اندوکاردیت (Endocarditis)، استئومیلیت (Osteomyelitis)، پنومونی (Pneumonia) و سندرم شوک سمی

*نویسنده مسئول: **ابوالفضل جعفری ثالث**، باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، دانشگاه آزاد اسلامی اهر، اهر، ایران.
Email: a.jafari_1392@yahoo.com

(Toxic shock syndrome) می‌شود. با توجه به موارد فوق و افزایش روز افزون مقاومت در استافیلوکوکوسها نسبت به سایر آنتی بیوتیک‌ها نظیر اریترومایسین (Erythromycin)، تتراسایکلین (Tetracycline) و حتی ونکومایسین، سبب شد که تلاش مستمر برای یافتن داروهای جدید ضد میکروبی صورت گیرد (۲). اشریشیاکلی یکی از پاتوژن‌های فرصت طلب بیمارستانی و همچنین شایع ترین عامل باکتریایی است که از عفونت‌های انسانی جدا گردیده است. مقاومت این باکتری نسبت به داروها در درمان بیماران بستری در بیمارستان‌ها اهمیت زیادی دارد. بیشترین علت مقاومت کسب پلاسمیدهایی است که کد کننده بتالاکتامازهای وسیع الطیف هستند. مقاومت ضد میکروبی در اشریشیاکلی در سرتاسر جهان گزارش شده است و سرعت افزایش مقاومت در این باکتری، نگرانی‌های زیادی در کشورهای در حال توسعه و توسعه یافته ایجاد کرده است (۳-۵).

بی شک توسل به گیاهان دارویی، کهن ترین رهیافت بشر برای درمان بیماری‌ها بوده است و در خلال توسعه تمامی تمدن‌های بشری همواره ارتباطی تنگاتنگ و نزدیک میان آدمی و گیاه وجود داشته است. با این حال، بسیاری از گونه‌های گیاهی ناشناخته مانده و نیز زمان زیادی تا کشف منابع جدید و با ارزش گیاهی باقیست. به این ترتیب گیاهان را می‌توان به عنوان منبعی از مواد شیمیایی بالقوه مفید دانست که تنها بخشی از آن مورد بهره برداری قرار گرفته است. این مواد شیمیایی بالقوه مفید را می‌توان نه تنها به عنوان دارو بلکه به عنوان الگویی بی نظیر به صورت نقطه شروعی برای ساخت آنالوگ‌های دارویی به کار برد و همچنین به عنوان ابزاری جالب به منظور فهم و درک بیشتر و بهتر پدیده‌های زیست شناختی به کمک گرفت (۶-۸). یکی از مهم ترین چالش‌های درمانی، مقابله با بیماری‌های عفونی به دلیل شیوع و گسترش بالای آن‌ها است. پس از شناسایی پنی سیلین در دهه ۴۰ میلادی وگسترش استفاده از آن در درمان، هر روزه آنتی بیوتیک‌های جدیدی برای درمان عفونت‌ها ارائه گردید. نتیجه این امر گسترش استفاده بالینی آنتی بیوتیک‌های طبیعی و سنتتیک (Synthetic) در درمان عفونت‌های بالینی بود. استفاده بی رویه از این داروهای ضد میکروبی منجر به افزایش مقاومت‌های دارویی علیه آنتی بیوتیک‌های متفاوت در اکثر باکتری‌ها گردید (۹). همین موضوع یکی از دلایل استفاده رو به رشد از گیاهان به عنوان مواد طبیعی کم خطر، در دسترس و ارزان قیمت، نسبت به آنتی بیوتیک‌های سنتتیک، در درمان عفونت‌های باکتریال بوده است. هم چنین این داروهای گیاهی نزد مردم دارای مقبولیت بیش تری در مصرف هستند (۱۰-۱۲). این دلایل علت افزایش مطالعات گسترده جهانی و معرفی اثرات ضد باکتریایی گیاهان مختلف در سال‌های اخیر بوده است (۱۳). بنابراین در این مطالعه، دو گونه از جنس گل گندم در نظر گرفته شده است.

گیاهان متعلق به این جنس از خانواده Asteraceae بوده که جنس گل گندم (Centaurea) شامل گونه‌های علفی یک ساله، دو ساله یا چند ساله و به ندرت درختچه‌ای کوچک با انشعابات خاردار است. اندام‌های هوایی اغلب کرک دار و به ندرت صاف به نظر می‌رسند. برگ‌ها با آرایش متناوب بر روی ساقه قرار می‌گیرند و در برخی گونه‌ها به صورت شانه‌ای هستند. گل آذین از نوع طبق و سطح نهنج دارای کرک‌های نرم است. گل‌ها در گونه‌های مختلف به رنگ‌های صورتی، ارغوانی متمایل به سیاه، آبی، زرد و یا سفید دیده می‌شود و دارای گلبرگ‌های تقریباً رشته‌ای است. میوه از نوع فندقه است که در مرحله‌ی رسیدگی بدون کرک به نظر می‌رسد (۱۴). دو گونه‌ی مورد بررسی در این مطالعه شامل: گل گندم آبی (C.cyanus L.) و گل گندم (C. depressa M.B.) می‌باشند که گل گندم آبی گونه‌ای یک ساله با ساقه‌ی ایستا و منشعب به ارتفاع ۱۵ تا ۶۰ سانتی متر است (۱۵). گل گندم در اراضی سنگلاخی ساحل دریاچه‌های شور، کنار جاده‌ها، خاک‌های سبک و شنی، اراضی بایر و داخل مزارع غلات به خصوص مزارع گندم و جوی پاییزه و نیز گیاهان علوفه‌ای و حبوبات به عنوان علف هرز مزاحم به چشم می‌خورد و از این نظر در فارسی به گل گندم معروف است. محل رویش گل گندم آبی در گیلان، مازندران، گلستان، کوه‌های البرز، اطراف تهران، سیستان و بلوچستان، خراسان، آذربایجان و کرمانشاه گزارش شده است (۱۶).

گل گندم (C. depressa M.B.) در محصولات زراعتی تابستانه، گیاهی یک ساله و در بین محصولات زراعی زمستانه، گیاهی دو ساله است. ارتفاع آن ۱۰ تا ۷۰ سانتی متر است و توسط بذر تکثیر می‌یابد. گل گندم را می‌توان در مزارع غلات به خصوص غلات زمستانه، مراتع شخم خورده و مزارع دیم زمستانه به وفور و

در مزراع سیب زمینی و چغندر قند با پراکندگی کمتر مشاهده کرد. علاوه بر این علف هرز فوق قادر است حاشیه‌ی جاده‌ها و دیگر مناطق کشت نشده را نیز آلوده سازد. تمام اندام‌های این گیاه دارای اثر تب بر، تصفیه کننده‌ی خون و ضد روماتیسم است و از آن در برطرف کردن بیماری‌های کبدی، بیماری‌های پوستی و زردی استفاده می‌شود (۱۷). این مطالعه در نظر دارد که ترکیبات شیمیایی و اثرات ضد باکتریایی اسانس گل گندم آبی (C. cyanus L.) و گل گندم (C. depressa M.B.) را بر روی برخی از باکتری‌های مقاوم به آنتی بیوتیک بررسی نماید. هدف از انجام این پژوهش بررسی خواص ضد باکتریایی اسانس گل گندم آبی (C. cyanus L.) و گل گندم (C. depressa M.B.) بر روی باکتری‌های پاتوژن *استافیلوکوکوس اورئوس*، *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* و اشریشیاکلی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

۶۰ نمونه بالینی مورد استفاده در این تحقیق (ادرار و زخم) از بیمارستان رازی شهرستان مرند انتخاب و پس از کشت روی محیط‌های کشت میکروبی و با کمک رنگ‌آمیزی گرم و انجام آزمون‌های بیوشیمیایی با استفاده از محیط‌های کشت Klegler Iron Agar (KIA)، Sulfite Indol Motility (SIM)، Voges Proskauer (VP)، Methyl Red (MR)، کوآگولاز، اوره آز، سیترات و آزمایش تخمیر قندهای مختلف تشخیص و آزمایش تخمیر قندهای مختلف تشخیص داده و سپس ایزوله‌ها به منظور ارزیابی حساسیت آنتی بیوتیکی به روش انتشار دیسک در آگار (Kirby&Baeur) بر روی پلیت‌های مولر هینتون آگار برده شدند. برای انجام آنتی بیوگرام سوسپانسیون باکتری با غلظت معادل استاندارد نیم مک فارلند تهیه و بر روی محیط کشت مولر هینتون آگار کشت داده شد. آنتی بیوتیک‌های مورد استفاده در این بررسی (ساخت شرکت پادتن طب) شامل جنتامایسین (10 µg)، آمپی سیلین (10 µg)، سفتازیدیم (30 µg)، پنی سیلین (10 U)، سفتریاکسون (30 µg)، اریترومایسین (15 µg)، تتراسیکلین (30 µg) بودند. پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون در ۳۷ درجه سانتی گراد قطر هاله‌های بازدارنده اندازه گیری شد و حساسیت و مقاومت سویه‌ها تعیین و نتایج آن با جدول استاندارد CLSI مقایسه شد (۱۸).

نمونه‌های گیاهی از عرصه‌های طبیعی از اطراف شهرستان مرند در استان آذربایجان شرقی، روستای عیش آباد (با مشخصات جغرافیایی ۴۵ درجه و ۱۵ دقیقه تا ۴۵ درجه و ۵۰ دقیقه‌ی طول شرقی و ۳۸ درجه و ۷ دقیقه تا ۳۸ درجه و ۵۶ دقیقه‌ی عرض شمالی و ارتفاع از سطح دریا ۱۳۳۴ متر) در طی دو مرحله به صورت تصادفی در پایان اردیبهشت و اوایل خرداد ماه جمع آوری گردیدند. جمع آوری نمونه‌ها با دست و با دقت کافی جهت اخذ از یک محدوده‌ی جغرافیایی صورت گرفت و سپس نمونه‌های جمع آوری شده توسط گیاه شناسان آزمایشگاه گیاه شناسی و هرباروم سازمان جهاد کشاورزی و منابع طبیعی استان آذربایجان شرقی در حد جنس و گونه شناسایی و مورد تایید قرار گرفت. نمونه‌های گیاهان پس از تعیین هویت و تایید تمیز شده و در فضایی بزرگ و مناسب و در شرایط دور از نور آفتاب خشک شدند. پس از خشک شدن کامل نمونه‌ها و جدا کردن اندام‌های هوایی (ساقه و برگ) از ریشه گیاه، آن‌ها آسیاب شدند و سپس با استفاده از دستگاه کلونجر از اندام‌های هوایی این گیاهان (ساقه و برگ) به مدت ۵ ساعت اسانس گیری انجام شد و پس از آب گیری با سولفات سدیم و حل شدن در حلال n- هگزان اسانس گیاهان جهت بررسی‌های ضد باکتریایی مورد استفاده قرار گرفت (۱۹ و ۲۰). همراه با اسانس حاصل از گیاهان فوق از n- هگزان به عنوان کنترل منفی با روش انتشار از طریق چاهک و از دیسک تتراسایکلین به عنوان شاهد مثبت انتخاب و با روش دیسک دیفیوژن آگار بررسی شد.

باکتری مورد استفاده در این مطالعه شامل استافیلوکوکوس اورئوس، استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس واشریشیاکلی مقاوم به آنتی بیوتیک جدا شده از بیماران به همراه سویه‌های استاندارد استافیلوکوکوس اورئوس (ATCC 25923)، استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس (ATCC 12228) و اشریشیاکلی (ATCC 25922) بود. در این تحقیق اثر ضد باکتریایی اسانس به روش انتشار چاهک انجام شد (۲۱) به گونه‌ای که ابتدا از هر یک از باکتری‌های مورد آزمایش سوسپانسیونی معادل کدروت استاندارد نیم مک فارلند تهیه شد و پس از پخش باکتری مورد آزمایش بر سطح محیط کشت مولر هینتون آگار از اسانس مورد آزمایش بلافاصله در روی محیط کشت فوق، چاهک‌هایی به قطر ۵ میلی متر ایجاد شد و مقدار ۵۰ و ۱۰۰ میکرو لیتر در داخل چاهک قرار داده و

حلال n- هگزان به عنوان شاهد با همان مقدار اضافه شده به پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی گراد قرار داده شد (۲۲).

نمونه‌ی اسانس بعد از پیدا کردن سیستم برنامه ریزی حرارتی، به دستگاه کروماتوگرافی گازی متصل به طیف سنج جرمی GC/Ms (دستگاه GC/Ms نوع Agilent آمریکایی) تزریق شد (۲۳). شناسایی ترکیبات با استفاده از بانک اطلاعاتی دستگاه و مقایسه‌ی طیف جرمی آن‌ها صورت می‌گیرد. آنالیز واریانس داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS (version 19) انجام شده و برای میانگین از آزمون چند دامنه دانکن در سطح اطمینان 99 درصد استفاده شد.

نتایج

واکنش باکتری نسبت به آنتی بیوتیک: از کل ۶۰ ایزوله انتخابی (۲۰ ایزوله از هر گروه باکتریایی مورد مطالعه)، که ۳۳ ایزوله از نمونه‌های اخذ شده از زنان (۵۵٪) و ۲۷ ایزوله از مردان (۴۵٪) می‌باشد.

فعالیت ضد باکتریایی چند آنتی بیوتیک علیه ایزوله‌های به دست آمده در شرایط آزمایشگاهی مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج این آزمایش نشان داد که هر ایزوله‌ی باکتریایی رفتار تقریبا متفاوتی در بین جدایه‌ها در مقاومت یا حساسیت به آنتی بیوتیک دیده شد. علاوه بر آن تفاوت‌هایی در مکانیسم بازدارندگی آنتی بیوتیک‌ها نیز مشاهده گردید که طی آن آنتی بیوتیک پنی سیلین و اریترومایسین کمترین اثر آنتی بیوتیکی را از خود نشان دادند (جدول ۱).

خواص ضد میکروبی اسانس‌ها: تنوع شرایط جغرافیایی و آب و هوایی در ایران موجب شده است که یک منبع متنوع و غنی از گونه‌های گیاهی در کشور وجود داشته باشد. بعضی از این گیاهان دارای خواص دارویی مانند فعالیت ضد باکتریایی هستند.

جدول ۱: الگوی حساسیت سویه‌های باکتری‌های مورد بررسی نسبت به آنتی بیوتیک‌ها

آنتی بیوتیک	نوع واکنش	باکتری‌ها تعداد و درصد		
		استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس	استافیلوکوکوس اورئوس	اشریشیاکلی
سفتریاکسون	حساس	۱۵(۷۵)	۸(۴۰)	۱۱(۵۵)
	مقاوم	۵(۲۵)	۴(۲۰)	۷(۳۵)
	بینابینی	۰(۰)	۸(۴۰)	۲(۱۰)
سفتازیدیم	حساس	۵(۲۵)	۱۰(۵۰)	۱۵(۷۵)
	مقاوم	۵(۲۵)	۷(۳۵)	۳(۱۵)
	بینابینی	۱۰(۵۰)	۳(۱۵)	۲(۱۰)
اریترومایسین	حساس	۹(۴۵)	۲(۱۰)	۰(۰)
	مقاوم	۸(۴۰)	۱۷(۸۵)	۴(۲۰)
	بینابینی	۳(۱۵)	۱(۵)	۱۶(۸۰)
تتراسیکلین	حساس	۱۵(۷۵)	۴(۲۰)	۳(۱۵)
	مقاوم	۵(۲۵)	۶(۳۰)	۱۶(۸۰)
	بینابینی	۰(۰)	۱۰(۵۰)	۱(۵)
پنی سیلین	حساس	۰(۰)	۰(۰)	۰(۰)
	مقاوم	۲۰(۱۰۰)	۱۸(۹۰)	۱۸(۹۰)
	بینابینی	۰(۰)	۲(۱۰)	۲(۱۰)
آمپی سیلین	حساس	۳(۱۵)	۲(۱۰)	۳(۱۵)
	مقاوم	۱۵(۷۵)	۱۴(۷۰)	۱۷(۸۵)
	بینابینی	۲(۱۰)	۴(۲۰)	۰(۰)
جنتامایسین	حساس	۱۳(۶۵)	۱۵(۷۵)	۸(۴۰)
	مقاوم	۹(۳۵)	۴(۲۰)	۹(۴۵)
	بینابینی	۰(۰)	۱(۵)	۳(۱۵)

بررسی‌های انجام شده در این پژوهش در مورد اثرات ضد باکتریایی اسانس‌های گیاهان مورد بررسی نشان داد که:

اسانس گیاهان گل گندم (C. depressa M.B.) و گل گندم آبی (C.cyanus L.) بر روی تمام باکتری‌های مورد مطالعه اثر مهاری داشته که بیشترین تاثیر اسانس حاصل از دو گیاه روی *اشریشیاکلی* می‌باشد. نتایج مربوط به بررسی اثرات ضد میکروبی اسانس گیاه گل گندم و گل گندم آبی در مقایسه با آنتی بیوتیک تتراسایکلین در جدول ۲ نشان داده شده است.

حلال n- هگزان به عنوان شاهد منفی برروی باکتری‌های مورد بررسی هیچ گونه اثر مهاری نشان نداد و این امر نشان دهنده تاثیر اسانس گیاهان فوق با غلظت مورد آزمایش بود. این نتایج بسیار جالب و در خور توجه هستند با توجه به روشن شدن ارتباط بین مواد طبیعی (اسانس‌ها) و فعالیت ضد میکروبی این مواد می‌توان بیان داشت که علف‌های هرز می‌توانند به عنوان یک منبع بیولوزیکی فعال در مقابل عوامل بیماری زا مورد استفاده قرار گیرند.

جدول ۲: تاثیر ضد باکتریایی گیاه C. depressa M.B. و C.cyanus L. بر میکرو ارگانیسم‌های جدا شده از بیماران (میانگین ± انحراف معیار)

ایزوله‌ها	غلظت (µl) و قطر هاله عدم رشد (میلی متر)				شاهد n-هگزان	تتراسایکلین
	C.cyanus L.		C.depressa M.B.			
	µl۱۰۰	µl۵۰	µl۱۰۰	µl۵۰		µg ۳۰
Staphylococcus aureus	۱۳۵/±۰/۱۶	۹/۸±۰/۰۱	۱۳/۳۳±۰/۴۷	۱۰/۶۶±۰/۴۷	۰	۲۵±۰/۵
Staphylococcus epidermidis	۱۱/۶±۰/۱۸	۸/۵±۰/۱۶	۱۴/۶۶±۰/۹۴	۱۲±۰/۸۱	۰	۱۹±۰/۲
Escherichia coli	۱۳/۵±۰/۲۶	۱۰/۵±۰/۱۶	۱۶±۰/۶۶	۱۳/۶۶±۰/۴۷	۰	۲۲±۱

ترکیبات شیمیایی حاصل از اسانس بخش‌های هوایی C. depressa M.B. و C.cyanus L: ترکیبات شیمیایی اسانس بخش‌های هوایی C. depressa M.B. و C.cyanus L در شرایط آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گرفت. اسانس‌ها به روش تقطیر با بخار آب به وسیله کلونجر استخراج شد و پس از خالص سازی (جدا کردن از عرق گیاه) به دستگاه کروماتوگرافی گازی (GC) و کروماتوگرافی گازی متصل به طیف سنج جرمی (GC/Ms) تزریق گردیده، مقدار و نوع ترکیبات اسانس مشخص گردید. در کل از اسانس C. depressa M.B.، ۲۸ ترکیب که شامل ۸۴/۸۷ درصد و از اسانس C.cyanus L.، ۳۰ ترکیب که ۹۵/۴۱ درصد ترکیبات شناسایی شدند. درصد مواد (ترکیبات شیمیایی) موجود در هر اسانس در جدول ۳ نشان داده شده است.

بحث

با توجه به افزایش مقاومت باکتری‌ها به انواعی از آنتی بیوتیک‌ها، تلاش‌ها برای دست یابی و استفاده ترکیبات موجود در گیاهان و کاربرد آن‌ها در درمان بیماری‌های مختلف صورت گرفته است. گیاهان از هزاران سال پیش نقش بسیار مهمی در حفظ سلامتی و بهبود کیفیت زندگی انسان‌ها داشته‌اند. گیاهان دارویی دارای خواص مفیدی هستند که از جمله می‌توان به خاصیت ضد باکتریایی، ضد انگلی، ضد قارچی و آنتی اکسیدانی اشاره کرد (۲۴).

چلبیان و همکاران در سال ۲۰۰۳، مشخص کردند که اسانس گیاه C. depressa M.B. اثر ضد باکتریایی بر روی استافیلوکوکوس اورئوس و اشریشیاکلی دارد که نتایج آزمایش با نتایج یافته‌های مطالعه حاضر مطابقت دارد (۲۵). عسکری و همکاران در سال ۲۰۱۱، ترکیبات شیمیایی اسانس اندام‌های مختلف گونه Centaurea depressa M. Bieb را به کمک گاز کروماتوگرافی (GC) متصل به طیف سنج جرمی (GC/MS) جداسازی و شناسایی کردند که نتایج آزمایش با ترکیبات شیمیایی یافته‌های مطالعه حاضر مطابقت ندارد (۲۶). در

جدول ۳: ترکیبات شیمیایی اسانس بخش‌های هوایی گیاهان C. depressa M.B. و C.cyanus L.

ردیف	C.depressa M.B.		ردیف	C.cyanusL.	
	ترکیب	درصد		ترکیب	درصد
۱	Octane	۳/۸۵	۱	Heptane	۱/۱۶
۲	Undecane	۱۸/۲۲	۲	Furan	۰/۰۱
۳	Nonane	۵/۶۵	۳	Octane	۱/۷
۴	Heptane	۱/۶۷	۴	Decane	۱۵/۷۲
۵	Decane	۱۸/۹۲	۵	Tridecane	۳/۸۶
۶	1-Hexadecanol	۲/۳۶	۶	Pentadecane	۴/۵۷
۷	Naphthalene	۴/۹۸	۷	4-hexenal	۰/۰۱
۸	3,7- Dimethyl-6-octenal	۰/۳۸	۸	Nonane	۶/۹۵
۹	1-Tridecanol	۱/۰۳	۹	Tetracontane	۰/۹۲
۱۰	Camphene	۰/۴۶	۱۰	Cyclohexanone	۱/۱۷
۱۱	Heneicosane	۰/۱۷	۱۱	1-Dotriacontanol	۱/۵۱
۱۲	Dodecan	۱۲/۰۸	۱۲	p-Menthan-3-one	۰/۷۹
۱۳	3-Eicosene	۰/۵	۱۳	Dodecane	۹/۴
۱۴	Decandioic acid ,didecyl ester	۰/۴	۱۴	Undecane	۱۷/۵۲
۱۵	Octadecane	۱/۲۷	۱۵	Naphthalene	۰/۳۷
۱۶	1-dodecanol	۱/۲۵	۱۶	1-octanol	۰/۲۲
۱۷	1-decanol	۰/۵۳	۱۷	Stereoisomer	۰/۹۳
۱۸	Hexanal	۰/۶۶	۱۸	1-Hexadecanol	۰/۷۱
۱۹	1-Tridecene	۰/۳۳	۱۹	Dioctadecyl ester	۳/۲۹
۲۰	Tridecane	۳/۲۹	۲۰	3-Eicosene	۰/۶۶
۲۱	Pentacosane	۰/۲۷	۲۱	4-undecene	۰/۲۲
۲۲	Tetradecane	۱/۵۱	۲۲	Decandioic acid,Didecyl ester	۲/۲۴
۲۳	Pentadecane	۰/۶۴	۲۳	Heneicosane	۰/۵
۲۴	Spathulenol	۰/۱۹	۲۴	Pentatriacontane	۰/۹۸
۲۵	Hexadecane	۰/۵	۲۵	1-Heptadecanol	۰/۶۷
۲۶	Heptadecane	۰/۵۳	۲۶	Pentane	۰/۸۷
۲۷	Pristane	۰/۷۹	۲۷	Rhodinal	۱/۶۱
۲۸	Phytane	۲/۴۴	۲۸	Heptadecane	۶/۱۶
			۲۹	Hexadecane	۶/۱۶
			۳۰	1-Nonadecene	۲/۴۹
			۳۱	Spathulenol	۰/۲۴
			۳۲	1-Decanol	۱/۷۹
جمع		۸۴/۸۷	جمع		۹۵/۴۱

مطالعه‌ای که چوبینه در سال ۲۰۱۲ انجام داد بیشترین ترکیبات حاصل از گیاه گل گندم را Decane، Dodecane و undencane معرفی کرد که نتایج آزمایش با ترکیبات شیمیایی یافته‌های مطالعه حاضر مطابقت دارد (۲۷). کلوندی و همکاران در سال

۲۰۰۷، مشخص کردند که گیاهان C. depressa M.B. و C.cyanus L. جزو گیاهان دارویی با بیشترین پراکنش در این استان (همدان) می‌باشند (۲۸). Susu GH در سال ۲۰۰۹ مشخص کرد که گیاه C.cyanus L. دارای خاصیت آنتی باکتریال و جزو گیاهان دارویی با مصارف پزشکی می‌باشد (۲۹). در مورد گیاه C.cyanus L. تا به حال در ایران تحقیقاتی انجام نشده که ضرورت انجام تحقیقات بیشتر روی این گونه برای محققین لازم و ضروری به نظر می‌رسد.

نتیجه‌گیری

در کل، نتایج بررسی‌ها در شرایط آزمایشگاهی نشان دادند که اسانس استخراج شده از گیاهان دارویی C. depressa M.B. و C. cyanus L. دارای فعالیت ضد میکروبی علیه استافیلوکوس اورئوس و اپیدرمیدیس و اشریشیاکلی می‌باشند که می‌توان به عنوان یک پیشنهاد مناسب در تولید داروهای گیاهی جدید پس از بررسی‌های بیشتر روی حیوانات آزمایشگاهی با کمترین عوارض جانبی به دلیل غیر شیمیایی بودن، علیه باکتری‌های فوق به کار برده شوند.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از زحمات همکاران بزرگوار جناب آقای دکتر پرویز ملک زاده، جناب آقای مهندس مرتضی حنیفه زاده و سرکار خانم مهندس رعنا یوسف زاده که در تمام مراحل پژوهشی مشوق ما بودند و ما را در اجرای این پروژه یاری نمودند و همچنین ریاست محترم بیمارستان رازی شهرستان مرند و مسئولین آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشگاه آزاد اهر و مرند به دلیل ارائه امکانات و تجهیزات آزمایشگاهی جهت انجام این پژوهش، سپاسگزاری می‌گردد.

تعارض منافع

نویسندگان هیچ گونه تعارض منافعی را اعلام نکرده اند.

References

1. Nimmo GR, Cooms GW, Pearson JC, et al. Methicillin resistant Staphylococus aureus in the Australian community; an evolving epidemic. Med J Aust. 2006;184(8): 374-375.
2. Orrt FA, Land M. Meteicillin resistant Staphylococus aureus prevalence: current susceptibility patterns in Trinidad. BMC Infect Dis. 2006;6(1):83.
3. De Francesco MA, Giuseppe R, Laura P, Riccardo N, Nin M. Urinary tract infections in Brescia, Italy: Etiology of uropathogens and antimicrobial resistance of common Uropathogens. Med Sci Moni. 2007;13(6):136-144.
4. Bell JM, Turnidge JD, Gales AC, Pfaller MA, Jones RN. Prevalence of extended spectrum β-lactamase (ESBL)-producing clinical isolates in the Asia-Pacific region and South Africa: regional results from SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (1998–99). Diagn Microbiol Infect Dis. 2002;42(3):193-8.
5. El Kholy A, Baseem H, Hall G, Procop GW, Longworth DL. Antimicrobial resistance in Cairo, Egypt 1999–2000: a survey of five hospitals. J Antimicrob Chemother. 2003;51(3):625– 630.
6. Skaltsa H, Lazari DM, Chinou IB, Loukis AE. Composition and antibacterial activity of the essential oils of Stachys candida and S. chrysantha from Southern Greece. Planta Med. 1999;65 (3): 255- 256.
7. Skaltsa HD, Demetoz C, Lazari, Sokovic M. Essential oil analysis and antimicrobial activity of eight Stachys species from Greece. Phytochemistry. 2003;64(3):743-752.
8. Digrak M, Alma MH, Ilcim A. Antibacterial and antifungal activities of Turkish medicinal plants, Pharm. Biol. 2001;39(5):346-350.
9. Weinstine RA. Controlling antimicrobial resistance in hospitals: Infection control and use of antibiotics. Emerg Infect Dis. 2001;7(2):188-192.
10. Mosaddegh M, Naghibi FI. Traditional Medicine: Past & Present. Traditional Medicine & Materia medica. Vol 1. Tehran, Iran; Published TMRC; 2002: p:2-20.[in Persian].
11. WHO Traditional Medicine Strategy 2002-2005, Geneva. 2002;1-3:43-47.

12. The promotion & development of traditional medicine- Report of a WHO meeting. WHO Report series No 622, Switzerland. 1978;8-36.
13. Marjorie MC. Plant Products as Antimicrobial Agents. Clin Microb Rev. 1999;12(4):564-582.
14. Davis PH, Chamberlain DF, Mattews VA. Flora of Turkey and the Wast Aegean Islands. 4. Edinburgh University press, Edinburgh: 1972, p. 365-288.
15. Mirshekari B. Weeds and their management. first Edition. Tabriz; Islamic Azad University of Tabriz; 2003, p430-488 [In Persian].
16. Mobin S. Culinary Iranian flora of vascular plants. Volumes 2-3. Tehran: Tehran University Press; 2006, p90-105 (In Persian).
17. Rashed Mohassel MH, Nadjafi H, Akbarzadeh M. Weed Biology and Control. Mashhad, Iran: Ferdowsi University Press; 2002, p86-100 [In Persian].
18. Clinical and laboratory standards institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; 17th informational supplement, M11-A7. Wayne:2007; 27(2).
19. Martinez-Lirola MJ, Gonzalez-Tejero MR, Molero-Mesa J. Ethanobotanical resources in the province of Almeria, Spain. Econ. Bot. 1996; 50(1): 40-56.
20. Kazemi M, Dakhili M, Dadkhah A, et al. Composition, antimicrobial and antioxidant activitiea of the essential oil of Artemisia Kermanensis Podl. An endemic species from Iran. J Med Plants Res 2011;5(18):4481-6.
21. Valizade E, Jafari B, Dolgari-SHaraf J, et al. Evaluating antibacterial activity from essential oil of Artemisia fragrans Willd. In North-Western of Iran. Afr J Microbiol Res 2012;6(4):834-7.
22. Negahban, M, Moharramipour, S, Sefidkon F. Fumigant toxicity of essential oil from Artemisia sieberi Besser against three stored-product insects. Journal of Stored Product Research, 2007;43(2):123-128.
23. Zargari, A. Handbook of Medical Plants. 6th Edition.Tehran: Tehran University Publications; 1997, 1-154.
24. Zargari A. Medicinal Plants. 6th ed, Vol 5. Tehran: Tehran University Publication; 1995, p70-93 (In Persian).
25. Chalabian F, Norouzi Arasi H, Moosavi S. A study of growth inhibitory effect of essential oils of seven species from different families on some kinds of microbes. Journal of Medicinal Plants, 2003;7(2):37-42. [In Persian].
26. Askari F, Mirza M. Chemical compositions of essential oils from different parts of Centaurea depressa M. Bieb. Iranian Journal of Medical and Aromatic Plants, 2013;29(2):476-485. [In Persian].
27. Chobineh F. The survey of evasive components of two species of weed Reseda lutea and Centaurea depressa and evaluation of Allppathy of plants. Ardabil: Islamic Azad University; 2012, p30-59[In Persian].
28. Kalvandi R, Safikhani1 K, Najafi1 G, Babakhanlo P. Identification of medicinal plants of Hamedan province. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants. 2007;3(23):350-374. [In Persian].
29. Susu GH, Chiru T. Centaurea cyanus L-A Weed with medical features. Scientific Papers, USAMV Bucharest, 2009;1(52):285-292.

Original Article

Evaluating Antimicrobial Effects of Centaurea Plant's Essential Oil on Pathogenic Bacteria: Staphylococcus Aureus, Staphylococcus Epidermidis, and Escherichia Coli Isolated from Clinical Specimens

Mobaiyen H [1], Jafari Sales A [2*], Sayyahi J [2]

1- Department of Microbiology, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran.
2- Young Researchers and Elite Club, Ahar Branch, Islamic Azad University, Ahar, Iran.

Received: 17 Jul 2015 Accepted: 15 Nov 2015

Abstract

Background & Objectives: Nowadays, development of drug resistance against chemical antimicrobial drugs has attracted attention using medicinal plants in treatment of infections. The aim of this study is to evaluate the antimicrobial effects of two species of Centaurea plant's essential oil on drug resistant clinical isolates of three pathogenic isolates.

Materials & Methods: The studied plants were collected from Marand city in East Azerbaijan, Iran and were confirmed as Centaurea Depressa M.B. and Centaurea Cyanus L. by botanists of Iran Agriculture Organization. The essential oil of these plants (Stems and leaf) were extracted via steam distillation method by Clevenger, and their antimicrobial effects were studied by well diffusion method in the abovementioned bacteria. The components of essential oil were identified by injection to gas chromatography linked to mass spectrometry (GC/M).

Results: The results of this study prove that the essential oils from the abovementioned plants have bactericidal effects. The most antibacterial effect is observed in Escherichia coli strains. The results of GC/MS chromatography reveal that the essential oils of Centaurea Depressa M.B. and Centaurea Cyanus L. have 28 and 32 compounds, respectively.

Conclusion: This study confirmed that the grasses could be used in medicinal plants group with antibacterial properties. However, their effects in vivo must be evaluated and the most effective component of them must be identified carefully so that they can be applied commonly as an alternative synthetic drug in treating infections.

Keywords: Essential oil, Centaurea, Gas Chromatography-Mass Spectrometry, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*

*** Corresponding authors**: **Abolfazl Jafari Sales**, Young Researchers and Elite Club, Ahar Branch, Islamic Azad University, Ahar, Iran.
Email:a.jafari_1392@yahoo.com.