Archive of SID

مجله علمی- پژوهشی زیست فناوری میکروبی دانشگاه آزاد اسلامی
بهار ۱۳۸۹، دوره دوم، شماره چهارم، صفحه ۲۸-۲۱

بررسی فعالیت ضد باکتریایی عصاره متانولی برگ اکالیپتوس بر علیه باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس*، *اشریشیا کلی* و *استرپتوکوکوس پیوژنز* در شرایط آزمایشگاهی

شهلا سلطانی نژاد [۱]، طیبه ستایی مختاری [۲]، میترا سلطانی نژاد [۳]

۱- گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد جیرفت
۲- دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد جیرفت
۳- دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان

نویسنده مسؤول: شهلا سلطانی نژاد، دانشگاه آزاد اسلامی واحد جیرفت، گروه زیست shahlasoltani56@gmail.com

دریافت: ۸۸/۱۰/۹ پذیرش:۸۸/۱۲/۱

چکیده

زمینه وهدف : امروزه در کشورهای توسعه یافته داروهای آنتی‌بیوتیک موجود نه تنها گران بوده و برای درمان بیماری‌ها مناسب نمی‌باشد، بلکه اثرات جانبی نیز به دنبال دارند. هدف اصلی این پژوهش نیز بررسی فعالیت ضد باکتریایی عصاره متانولی برگ سه گونه اکالیپتوس (*Eucalyptus camaldulensis*، *Eucalyptus globulus* و *Eucalyptus microtheca*) بر علیه برخی از باکتری‌های بیماری زا می‌باشد.

روش بررسی: در این پژوهش برگ‌های سه گونه اکالیپتوس از مناطق مختلف شهرستان جیرفت جمع آوری شده، پس از تعیین گونه در شرایط مناسب خشک گردیدند. بعد از عصاره‌گیری به روش ماسراسیون، تاثیر ضد باکتریایی غلظت های مختلف عصاره به روش تمام ظرف و روش انتشار در آگار به کمک دیسک بر روی باکتری‌های *S.pyogenes* PTCC 1447 , *E.coli* PTCC 1338 و*S.aureus* PTCC 1113 مورد ارزیابی قرار گرفت. همچنین حداقل غلظت مهار کنندگی (MIC) عصاره‌ها با استفاده از روش رقت لوله‌ای برای هر باکتری تعیین شد.

یافته‌ها : عصاره هر سه گونه اکالیپتوس در غلظت ۲۰۰۰ μg/ml فاقد اثر ضد باکتریایی بر روی *E. coli* بوده و قادر به جلوگیری از رشد این باکتری بر روی محیط کشت نمی‌باشد. عصاره *E. camaldulensis* و *E. globulus* در این غلظت فعالیت ضد باکتریایی قوی بر روی *S. aureus* و *S. pyogenes* از خود نشان داد. به طوری که کاملاً از رشد این باکتری‌ها بر روی محیط کشت جلوگیری نمود. در حالیکه عصاره *E. microtheca* فقط بر روی *S. aureus* اثر ضد باکتریایی دارد. MIC عصاره *E. camaldulensis* برای *S. aureus*و *S. pyogenes*کمتر از ۷/۸ µg /ml بود در حالیکه MIC عصاره *E. globules* برای *S. aureus*، ۱۵/۶ µg /ml و برای *S. pyogenes* ۳۱/۲۵ µg /ml مشاهده شد. عصاره *E. microtheca* حداقل غلظت مهارکنندگی برای *S. aureus*و *S. pyogenes*، ۱۵/۶ µg /mlدارا بود.

نتیجه‌گیری: عصاره متانولی گونه‌های مختلف اکالیپتوس فعالیت ضد باکتریایی بالایی بر علیه بسیاری از باکتری‌های بیماریزا دارد.

واژه‌های کلیدی: عصاره متانولی، اثرات ضد باکتریایی ، اکالیپتوس، باکتری‌های بیماریزا

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

بیماری‌های عفونی یکی از مهمترین عوامل مرگ و میر بخصوص در کشورهای جهان سوم است. داروهای آنتی بیوتیک موجود علاوه بر گران بودن و مقرون به صرفه نبودن تولید آنها، مشکل مقاوم شدن ایزوله‌های بیماریزا در برابر آنها را هم در بر دارند. به همین دلیل تهیه آنتی‌بیوتیک‌های جدید ضروری به نظر می‌رسد (۱). اکالیپتوس یکی از معروف‌ترین گیاهان دارویی است که از دیر باز اثرات ضد میکروبی و خواص دیگر آن مورد توجه بوده است. این گیاه غنی از پلی فنل‌ها و ترپنوئیدها است و ترکیب اصلی برگ آن اکالیپتول یا سینئول می‌باشد(۱و۲). از اکالیپتوس برای درمان بسیاری از بیماری‌ها مانند آنفلوانزا، اسهال خونی و بیماری‌های پوستی استفاده می‌شده است (۲). عصاره برگ این گیاه دارای خواص ضد سرطانی، ضد التهابی، ضد درد، آنتی اکسیدان، ضد ازدیاد قند خون، ضد مالاریایی، ضد قارچی و ضد ویروسی است (۳، ۴، ۵ و ۶). این عصاره روی طیف وسیعی از باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی نظیر *کلبسیلا، یرسینیا انتروکولیتیکا، سالمونلا تیفی، شیگلا دیسانتری، باسیلوس سرئوس* و قارچ *کاندیدا آلبیکنس* فعالیت ضد میکروبی از خود نشان داده است (۱، ۷، ۸ و۹). *استافیلوکوکوس اورئوس* باکتری بیماریزای مهمی است که در بروز عفونت‌های مختلف از جمله آندوکاردیت، سپتی سمی، ضایعات کلیوی، مننژیت، مسمومیت های غذایی در انسان و ورم پستان در گاوهای شیری دخالت دارد. این باکتری به دلیل داشتن عوامل بیماریزای متعدد از جمله آنزیم‌ها و سموم مختلف در مقابل دفاع میزبان پایداری می‌کند. بروز مقاومت‌های روز افزون در میان ایزوله‌های کلینیکی این باکتری در سال‌های اخیر موجب گسترش مجدد عفونت‌های استافیلوکوکی در میان بخش‌های بیمارستانی شده است (۱۰). *اشریشیاکلی* باسیلی گرم منفی از خانواده انتروباکتریاسه است که بیماری‌های مختلفی از جمله عفونت دستگاه ادراری تناسلی، عفونت کیسه صفرا و مجاری صفراوی، مننژیت نوزادان نارس و کودکان ضعیف، عفونت زخم‌ها، پنومونی، پریتونیت را در انسان ایجاد می‌کند (۱۰ و ۱۱). این باکتری مواد آنتی بیوتیک مانندی به نام کولی سین تولید می‌کند که به پذیرنده‌های اختصاصی غشای خارجی سلول‌های حساس متصل می‌شوند و به دنبال آن در غشای سیتوپلاسمی نفوذ می‌یابند (۱۰). شدت بیماریزایی در این باکتری به توانایی اتصال، تشکیل کلونی در محل عفونت، ایجاد آسیب بعدی در میزبان و معمولاً با ایجاد توکسین‌های متعدد (انتروتوکسین‌ها، همولیزین‌ها) در ارتباط است (۱۰). *استرپتوکوکوس پیوژنز* مهمترین استرپتوکوک‌ها در عفونت‌های پوستی و بخش فوقانی دستگاه تنفس می‌باشد که این عفونت‌ها عوارضی نظیر تب روماتیسمی و گلومرولونفریت را به دنبال دارند (۱۰ و ۱۱). پس از ایجاد آلودگی، استرپتوکوک ها انواع مواد فعال بیولوژیکی و سمی مثل استرپتولیزین، استرپتوکیناز، هیالورونیداز وغیره را تولید می‌کنند (۱۰). این‌گونه را از روی حساس بودن به آنتی بیوتیک باسیتراسین از سایر *استرپتوکوک‌های β همولیتیک* متمایز می‌سازند (۱۰).

هدف از این مطالعه بررسی اثرات ضد باکتریایی عصاره متانولی برگ گیاه اکالیپتوس بر علیه برخی از باکتری‌های بیماریزا و تعیین گونه دارای خواص ضد باکتریایی بیشتر بر علیه این باکتری هاست، تا بتوان از این امر در تهیه داروهای گیاهی بهره جست.

روش بررسی

تهیه نمونه: گیاهان مورد استفاده در این تحقیق سه گونه از اکالیپتوس (*E. Globulus, E. Camaldulensis* و *E. Microtheca*) بود که در مهر ماه از شهرستان جیرفت جمع آوری و در هرباریوم گیاهی دانشگاه آزاد اسلامی واحد جیرفت تعیین گونه شدند. پس از جمع آوری گیاهان، برگ ها در شرایط مناسب و در سایه خشک گردیده و جهت تهیه عصاره با آسیاب خرد شدند.

تهیه عصاره: برای تهیه عصاره از روش ماسراسیون استفاده شد. به این صورت که پس از خرد کردن برگ ها، ۵۰ گرم از هر نمونه به مدت ۴۸ ساعت در متانول ۸۰ درجه خیسانده شده و پس از گذشت این مدت زمان با کاغذ صافی صاف گشت. بعد از اتمام عملیات عصاره گیری، عصاره‌های بدست آمده با استفاده از دستگاه روتاری (تقطیر در خلا) در دمای ۴۰ تا ۵۰ درجه سانتی گراد تغلیظ شد و در دمای ۵۰ – ۴۰ درجه به مدت ۲ روز خشک گردید (۱۲ و ۱۳).

تعیین وزن خشک عصاره: ابتدا وزن یک لوله آزمایش تعیین و پس از آن ۱ ml از عصاره‌ها در آن ریخته شد. سپس محتوی لوله در دمای اتاق خشک گردید. بعد از خشک شدن عصاره، وزن لوله آزمایش مجدداً تعیین گشت. اختلاف وزن لوله معادل با وزن ۱ ml از عصاره‌ها است. میانگین سه بار تکرار، به عنوان وزن خشک عصاره‌ها محاسبه شد.

تهیه باکتری‌های مورد آزمایش: میکرو ارگانیسم‌های مورد استفاده *Staphylococcus aureus* PTCC 1113 , *Streptococcus pyogenes* PTCC 1447 و *E. coli* 1338 PTCC بودند که از پژوهشکده بیوتکنولوژی، مرکز کلکسیون قارچ‌ها و باکتری‌های صنعتی و عفونی ایران به صورت لیوفیلیزه تهیه شدند. درکلیه آزمون‌های میکروبیولوژیکی از هود لامینار فلو استفاده شد. ابتدا آمپول‌های لیوفیلیزه در شرایط استریل باز و به محیط کشت مایع NB (Nutrient Broth مرک آلمان)

www.SID.ir

Archive of SID

منتقل و به مدت ۲۴ ساعت در ۳۵ درجه سانتی گراد گرما گذاری شدند. برای هر آزمون جهت بررسی اثرات ضد میکروبی هر بار کشت تازه ۲۴ ساعته تهیه گردید.

تهیه سوسپانسیون میکروبی ۰/۵ مک فارلند: برای تهیه سوسپانسیون میکروبی نیاز به کشت ۲۴ ساعته از هر باکتری می‌باشد. بنابراین ۲۴ ساعت قبل از انجام آزمایش، از کشت ذخیره به محیط کشت شیبدار آگار مغذی (مرک آلمان) تلقیح شد. پس از رشد کشت مربوطه سطح آن با محلول نرمال سالین شسته شد و سوسپانسیون غلیظ میکروبی حاصل گردید. آنگاه مقداری از سوسپانسیون میکروبی، داخل لوله استریل درب دار حاوی نرمال سالین ریخته شده و کدورت آن با اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۳۰ نانومتر اندازه‌گیری شد و تا هنگام برابر شدن کدورت محلول با کدورت محلول ۰/۵ مک فارلند، با نرمال سالین رقیق گردید. سوسپانسیون تولیدی بایستی حاوی $1/5 \times 10^8$ CFU/ml باشد (۱۱، ۱۴ و ۱۵).

بررسی فعالیت ضد باکتریایی: به منظور بررسی اثرات ضد باکتریایی عصاره ها از دو روش اضافه نمودن عصاره به محیط کشت (تمام ظرف) و روش انتشار در آگار به کمک دیسک استفاده شد. در روش تمام ظرف ابتدا ۰/۲ گرم از هر عصاره به ۵ میلی لیتر آب مقطر استریل اضافه گردیده و برای یکنواخت شدن به کمک دستگاه ورتکس هم زده شد. سپس۱ میلی لیتر از این محلول به ظرف‌های پتری استریل اضافه گشت. غلظت نهایی عصاره در این حالت ۲۰۰۰ µg/ml می‌باشد(۱۶). در مرحله بعد محیط کشت استریل مولر هینتون آگار (مرک آلمان) به این ظرف‌های پتری اضافه شده و در دمای اتاق قرار گرفت تا محیط ببندد. یک لوپ پر از کشت استاندارد هر باکتری بر روی این محیط‌ها کشت داده شده و به مدت ۴۸ ساعت درگرمخانه۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. از محیط دارای عصاره و بدون باکتری نیز به عنوان کنترل استفاده شد (۱۶ و ۱۷). در روش انتشار در آگار به کمک دیسک، غلظت های ۲۵، ۵۰ و ۷۵ درصد عصاره‌ها در آب مقطر استریل تهیه گشت. دیسک‌های بلانک مدتی در این غلظت‌ها خیسانده شدند. محیط کشت مولر هینتون آگار پس از آماده سازی و استریل کردن در ظرف پتری ریخته شده و فرصت داده شد تا به صورت جامد درآید. بعد از فرو بردن سواپ استریل در سوسپانسیون میکروبی ، اضافه محلول با فشار دادن سواپ به کناره لوله گرفته شده و سپس در تمام سطح پلیت کشیده گردید. در مرحله بعد با استفاده از پنس استریل دیسک‌های خیسانده شده در غلظت‌های مختلف عصاره‌ها در سطح محیط کشت قرارگرفته و با کمی فشار بر روی محیط کشت ثابت گردید. پتری‌ها را در حرارت ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۸– ۱۶ ساعت قرار داده، پس از آن با استفاده از خط‌کش دقیق قطر هاله عدم رشد بر حسب میلی متر اندازه‌گیری شد (۱۳ و ۱۸). جهت مقایسه قدرت ضد میکروبی عصاره‌ها، از دیسک‌های شاهد مثبت (جنتامایسین ۱۰µg ، آموکسی سیلین ۲۵ µg و آمپی سیلین ۱۰ µg بر دیسک) استفاده گردید. تمام آزمایش‌ها با ۳ تکرار انجام گرفت.

تعیین حداقل غلظت ممانعت کننده از رشد (MIC): با استفاده از روش رقت لوله‌ای حداقل غلظت مهار کننده رشد (MIC) عصاره اکالیپتوس تعیین گردید (۲۲و ۲۹). برای تعیین MIC برای هر عصاره از یک سری۱۰ تایی لوله آزمایش استفاده شد. ۸ لوله برای آزمایش رقت‌های مختلف هر عصاره، یک لوله به عنوان کنترل مثبت و یک لوله به عنوان کنترل منفی بکار رفت. هر عصاره با رقت‌های مختلف از لوله شماره یک با غلظت ۱۰۰۰ µg/ml تا لوله شماره ۸ با غلظت µg/ml ۷/۸ در محیط کشت مولر هینتون مایع به همراه ۱ ml از سوسپانسیون میکروبی که دارای $1/5 \times 10^8$ CFU/ml باکتری بود، استفاده شد. یک لوله حاوی ۹ ml محیط کشت و ۱ ml از عصاره رقیق شده به عنوان کنترل مثبت و یک لوله حاوی ۹ ml محیط کشت و ۱ ml از سوسپانسیون باکتری به عنوان کنترل منفی تهیه شد. تمام لوله‌های آزمایش به مدت ۲۴ ساعت در ۳۵ درجه سانتی گراد قرار گرفتند. پس از طی زمان گرمخانه گذاری لوله‌ها از نظر کدورت ناشی از رشد باکتری تلقیح شده مورد بررسی قرار گرفتند. پایین‌ترین غلظتی که در آن کدورتی مشاهده نگردید و کاملاً شفاف بود، به عنوان MIC در نظر گرفته شد(۴و ۱۹). این روش برای هر عصاره و هر باکتری ۳ بار تکرار شد.

آنالیز آماری: برای محاسبات آماری از نرم افزار SPSS استفاده شده، برای مقایسه میانگین نمونه‌ها از آزمون Tukey استفاده گردید. به منظور تعیین نمونه‌هایی که دارای اختلاف میانگین معنی داری می‌باشند، آنالیز واریانس یک طرفه با تکرار مساوی بکار گرفته شد.

یافته ها

نتایج حاصل از بررسی اثرات ضد باکتریایی عصاره اکالیپتوس به روش تمام ظرف در جدول ۱ آورده شده است. این نتایج نشان می‌دهد که عصاره هر سه گونه اکالیپتوس در غلظت ۲۰۰۰ µg /ml فاقد اثر ضد باکتریایی بر روی *E. coli* بوده و قادر به جلوگیری از رشد این باکتری بر روی

www.SID.ir

Archive of SID

محیط کشت نمی‌باشد. عصاره *E. camaldulensis* و *E. globulus* در این غلظت کاملاً از رشد *S. aureus* و *S. pyogenes* بر روی محیط کشت جلوگیری نمود. در حالیکه عصاره *E. microtheca* فقط بر روی *S. aureus* اثر ضد باکتریایی دارد. منفی (-) نشان دهنده رشد باکتری بر روی محیط کشت و عدم وجود فعالیت ضد باکتریایی عصاره است.

نتایج بدست آمده از بررسی اثرات ضد باکتریایی غلظت‌های مختلف عصاره سه گونه اکالیپتوس به روش انتشار در آگار درجدول۲ آورده شده است. این نتایج نشان می‌دهد که غلظت های ۲۵ و ۵۰ درصد عصاره هر سه گونه اکالیپتوس هیچ گونه اثر ضد باکتریایی بر علیه *E. coli* ندارد، ولی غلظت ۷۵ درصد *E. globulus* و *E. camaldulensis* قادر به جلوگیری از رشد این باکتری می‌باشد، اما در میزان تاثیر اختلاف معنی داری بین این دو گونه مشاهده نمی‌شود. در غلظت ۲۵ و ۷۵ درصد بین اثر ضد باکتریایی عصاره سه گونه اکالیپتوس بر روی *S. aureus* اختلاف بسیار معنی‌داری وجود دارد. در این غلظت‌ها عصاره *E. camaldulensis* بیشترین تاثیر ضد باکتریایی را بر روی این باکتری از خود نشان داد. در غلظت ۵۰ درصد اثر ضد باکتریایی *E. globulus* و *E. camaldulensis* بیشتر از دو گونه دیگر است ولی در میزان تاثیر بین این دو گونه اختلاف معنی داری مشاهده نمی‌شود.

جدول ۱- فعالیت ضد باکتریایی غلظت ۲۰۰۰ µg /ml عصاره‌ها بر روی باکتری‌ها (روش تمام ظرف)

گونه اکالیپتوس / باکتری	*E. globulus*	*E. camaldulensis*	*E. microtheca*
E. coli	–	–	–
S. aureus	+	+	+
S. pyogenes	+	+	–

جدول ۲- میانگین قطر هاله عدم رشد باکتری بر حسب میلی متر

E.coli			
غلظت عصاره/ گونه اکالیپتوس	غلظت ۲۵ درصد	غلظت ۵۰ درصد	غلظت ۷۵ درصد
E. globulus	-	-	۷/۶±۰/۲۸۸۷
E. camaldulensis	-	-	۷±۰
E. microtheca	-	-	-
S. aureus			
غلظت عصاره/ گونه اکالیپتوس	غلظت ۲۵ درصد	غلظت ۵۰ درصد	غلظت ۷۵ درصد
E. globulus	۱۶/۵ ± ۰/۵	۱۸/۶ ±۰/۲۸۸۷	۱۹/۶ ± ۰/۵۷۷۴
E. camaldulensis	۱۶/۶ ± ۰/۲۸۸۷	۱۹ ± ۰/۵	۲۰/۶ ± ۰/۲۸۸۷
E. microtheca	۱۳/۳ ±۰/۲۸۸۷	۱۴/۵ ± ۰/۵	۱۴/۶ ± ۰/۵۷۷۴
S. pyogenes			
غلظت عصاره/ گونه اکالیپتوس	غلظت ۲۵ درصد	غلظت ۵۰ درصد	غلظت ۷۵ درصد
E. globulus	۱۱/۶ ± ۰/۲۸۸۷	۱۶/۳ ± ۰/۵۷۷۴	۱۷/۵ ± ۰/۵
E. camaldulensis	۱۶/۶ ± ۰/۲۸۸۷	۱۹/۱ ± ۰/۷۶۳۸	۲۰/۶ ±۰/۵۷۷۴
E. microtheca	۱۱/۳ ± ۰/۵۷۷۴	۱۳/۱ ± ۰/۲۸۸۷	۱۴/۶ ± ۰/۵۷۷۴

www.SID.ir

Archive of SID

در مورد باکتری *S. pyogenes* نیز بیشترین اثر ضد باکتریایی مربوط به غلظت‌های مختلف *E. camaldulensis* می باشد و عصاره *E. microtheca* کمترین تاثیر را بر روی این باکتری دارد. به طور کلی بیشترین فعالیت ضد میکروبی در مورد هر سه باکتری مربوط به عصاره *E. camaldulensis* می‌باشد. همانطوری که جدول ۳ نشان می‌دهد *استرپتوکوکوس پیوژنز* در مقابل آنتی بیوتیک‌های آموکسی سیلین و آمپی سیلین مقاوم بوده، ولی عصاره اکالیپتوس روی این باکتری موثر است. مشاهدات نشان داد که حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره *E. camaldulensis* برای باکتری‌های *S. aureus* و *S. pyogenes* کمتر از ۷/۸ µg /ml بود. حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره *E.globules* برای *S. aureus*، µg /ml ۱۵/۶ و برای *S. pyogenes* ۳۱/۲۵ µg /ml مشاهده شد. در مورد عصاره *E. microtheca* حداقل غلظت مهارکنندگی برای *S. aureus*و *S. pyogenes*، µg /ml ۱۵/۶بود.

نتایج نشان داد که در مورد باکتری *E. Coli* هیچ کدام از غلظت‌های بکار رفته در پژوهش قادر به جلوگیری از رشد آن نبود (جدول۴).

جدول ۳-میانگین قطر هاله های عدم رشد آنتی بیوتیک های مختلف بر حسب mm

آنتی بیوتیک / باکتری	جنتامایسین	آمپی سیلین	آموکسی سیلین
E.coli	۱۸/۳ ± ۰/۵۷۷۴	۱۱/۶ ±۰/۵۷۷۴	۱۳/۶ ± ۰/۵۷۷۴
S. aureus	± ۰/۵۷۷۴ ۱۸/۶	± ۰/۲۸۸۷ ۲۸/۳	۲۹/۶ ± ۰/۵۷۷۴
S. pyogenes	۱۵/۳ ±۰/۵۷۷۴	-	-

جدول ۴- نتایج حداقل غلظت مهارکنندگی رشد (MIC) عصاره متانولی اکالیپتوس روی باکتری‌های مورد مطالعه

بر روی *E. coli*										
گونه اکالیپتوس/ gµ ml	۱۰۰۰	۵۰۰	۲۵۰	۱۲۵	۶۲/۵	۳۱/۲۵	۱۵/۶	۷/۸	کنترل مثبت	کنترل منفی
E. globulus	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
E. camaldulensis	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
E. microtheca	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
بر روی *S. aureus*										
گونه اکالیپتوس/ gµ ml	۱۰۰۰	۵۰۰	۲۵۰	۱۲۵	۶۲/۵	۳۱/۲۵	۱۵/۶	۷/۸	کنترل مثبت	کنترل منفی
E. globulus	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+
E. camaldulensis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
E. microtheca	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+
بر روی *S. pyogenes*										
گونه اکالیپتوس/ gµ ml	۱۰۰۰	۵۰۰	۲۵۰	۱۲۵	۶۲/۵	۳۱/۲۵	۱۵/۶	۷/۸	کنترل مثبت	کنترل منفی
E. globulus	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+
E. camaldulensis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
E. microtheca	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+

www.SID.ir

Archive of SID

بحث

گیاهان دارویی از دیر باز مورد استفاده انسان قرار می‌گرفته اند. در دهه اخیر نیز به دلیل بروز مقاومت‌های دارویی، به این منابع به عنوان مخازن طبیعی توجه خاصی شده است. عصاره گیاه اکالیپتوس به عنوان یک عصاره دارای خواص ضد میکروبی معرفی گردیده است. به طور مثال Osawa و همکاران (۱۹۹۶) طی مطالعه‌ای در ژاپن نشان دادند که برخی از ترکیبات بدست آمده از برگ‌های *E. globulus* دارای فعالیت ضد میکروبی با حداقل غلظت ممانعت از رشد باکتری ۶/۲۵ – ۰/۲ گرم در میلی لیتر می‌باشد (۲۰). Pattnaik و همکاران (۱۹۹۶) در مرکز تحقیقات پزشکی منطقه ای هند فعالیت ضد میکروبی مشخصی را برای اسانس اکالیپتوس در برابر ۲۲ ایزوله باکتریایی مورد آزمایش گزارش نمودند (۲۱). در سال ۱۹۹۶ در ارتباط با *سودوموناس آئروژینوزا* MIC عصاره متانولی اکالیپتوس گلوبولوس ۱۰ µg /ml گزارش شد(۹). Srinivasan و همکاران (۲۰۰۱) قطر هاله بازدارنده از رشد عصاره اکالیپتوس را برای این باکتری ۳۲ mm گزارش و آن را به عنوان یک ماده ضد باکتریایی مناسب معرفی کردند (۹). ستاری و همکاران (۲۰۰۵) نشان دادند که عصاره الکلی اکالیپتوس کامالدولنسیس با غلظتی معادل ۳/۲ µg /ml و عصاره آبی آن با غلظت ۱۷/۵ µg /ml می تواند به خوبی از رشد ایزوله‌های استاندارد *سودوموناس آئروژینوزا* جلوگیری به عمل آورد (۲۲). نتایج بررسی Babayi و همکاران (۲۰۰۴) بر روی عصاره متانولی *E. camaldulensis* و اثرات ضد میکروبی آن نشان می‌دهد که عصاره متانولی این گونه دارای Saponin ، Tannin، روغن‌های فرار و بالزام (gum) بوده و اثرات ضد میکروبی قوی بر علیه باکتری‌های *باسیلوس سوبتیلیس و باسیلوس سرئوس* از خود نشان می‌دهد، در حالیکه هیچ اثری بر روی رشد *E. coli* ندارد که با نتایج حاصل از این پژوهش همخوانی دارد (۲۳). در مطالعات مختلفی که بر روی ترکیبات موثر اندام گیاه اکالیپتوس بر اساس روشهای گوناگون استخراجی انجام شده است، وجود ترکیبات متعددی به اثبات رسیده است. از بین تمام مواد شناسایی شده، اوکالیپتول یا آلفا سینئول بیشترین و مهم‌ترین ماده است که دارای آثار بیولوژیک گوناگون از جمله فعالیت ضد میکروبی است. MIC این ماده برای *استرپتوکوکوس موتانس و استرپتوکوکوس ساب رینوس* به ترتیب ۱۲/۵ و ۶/۲۵ µm /ml گزارش شده است (۲۴). Ahmad و همکاران (۱۹۹۸) و Shariff (۲۰۰۱) گزارش نمودند که وجود اثرات ضد میکروبی تعدادی از گیاهان خانواده میرتاسه ناشی از حضور ترکیبات Saponin, tannin ، روغن های فرار و بالزام می‌باشد (۱۳و۲۵). وجود Tannin در *E.camaldulensis* بیان می‌دارد که این گیاه می‌تواند در صنایع غذایی، دارویی و کشاورزی مورد استفاده مفید واقع شود (۲۶). روغن های معطر فرار در *E.camaldulensis* نیز در شربت اکالیپتوس، محلول‌های ضد سرفه و همچنین به خاطر فعالیت ضد میکروبی قوی آن در شیاف‌های طبی استفاده می‌شود (۱۶). به طور کلی باکتری‌های گرم مثبت نسبت به باکتری‌های گرم منفی حساسیت بیشتری به روغن‌های فرار اکالیپتوس از خود نشان می‌دهند. علت حساستر بودن باکتری‌های گرم مثبت نسبت به مواد شیمیایی و اسانس های گیاهی، اختلاف ساختمانی دیواره می‌باشد. باکتری‌های گرم مثبت در دیواره سلولی خود دارای ترکیب موکوپپتید بوده، در حالیکه باکتری‌های گرم منفی فقط لایه نازکی از موکوپپتید دارند و قسمت اعظم ساختمان دیواره در آنها لیپوپروتئین و لیپوپلی ساکارید است. به همین علت در مقابل مواد ضد باکتریایی مقاوم ترند (۲۷و ۲۸). این مطلب با نتایج بدست آمده در این پژوهش همخوانی دارد.

نتیجه گیری

عصاره متانولی اکالیپتوس فعالیت ضد باکتریایی مناسبی بر روی بسیاری از باکتری‌ها دارد و در بین گونه های بررسی شده در این پژوهش بیشترین فعالیت ضد میکروبی مربوط به اکالیپتوس کامالدولنسیس می‌باشد. بنابراین استفاده از اکالیپتوس به عنوان یک ترکیب ضد میکروبی در شرایط آزمایشگاهی مستلزم تحقیقات بیشتری در زمینه مکانیسم عمل مواد موثر این گیاه بر روی میکروارگانیسم‌ها و مطالعات فارماکولوژیکی می‌باشد. به نظر می رسد که انجام این گونه مطالعات بر روی آنها ضروری بوده و این مواد را بتوان پس از انجام مطالعات تکمیلی درکنترل برخی بیماری‌ها و حفظ مواد خوراکی به خوبی مورد استفاده قرار داد.

تشکر و قدردانی

تحقیق ارائه شده بخشی از طرح پژوهشی مصوب دانشگاه آزاد اسلامی واحد جیرفت می‌باشد و از لحاظ مالی توسط حوزه معاونت پژوهشی این واحد حمایت شده است. بدین وسیله از زحمات جناب آقای مهندس سلیمانی و جناب آقای مهندس رهبریان قدردانی می‌شود.

www.SID.ir

Archive of SID

References

1- Ayepola OO, Adeniyi BA. *The antibacterial activity of leaf extracts of Eucalyptus camaldulensis (Myrtaceae)*. J Appl Sci Res. 2008; 4(11): 1410-1413.

2- Zargari A. *Iranian medicinal plants*. Tehran university press; 1995: 4-5.

3- Adebola O, Olusegun E, Olayide N. *Antimicrobial activity of the essential oils of five Eucalyptus species growing in Nigeria*. Fitotera. 1999; 70: 526-528.

4- Sindambiwe JB, Calomme M, Cos P, Totte J, Pieters L. *Screening of seven selected Rwandan medicinal plants for antimicrobial and antiviral activities*. J. Ethnopharmacol. 1999; 65(1): 71-77.

5- Siddiqui B, Sultana I. *Triterpenoidal constituents from Eucalyptus camaldulensis var. Obtusa leves*. Phytochem. 2004; 54: 861-865.

6- Takasaki M, Konoshima T, Etoh H. *Cancer chemo preventive activity of euglobal-G1 from leaves of Eucalyptus grandis*. Can Let. 2000; 155: 61-65.

7- Akin-Osanaiye BC, Agbaji AS, Dakare MA. *Antimicrobial activity of oils and extracts of Cymbopogon citrates, Eucalyptus citriodora and Eucalyptus camaldulensis.* J Med Sci. 2007; 7(4): 694- 697.

8- Mehraban F, Tabrizib N, Jahaniani F. *Antidermatophyte activities of E. camaldulensis in comparison with griseofulvin*. Iranian J Pharm & Ther. 2005; 4(2): 80-83.

9- Srinivasan D, Nathan S, Suresh T. *Antimicrobial activity of certain Indian medicinal plants used in folkoric medicine*. J Ethnopharmacol. 2001; 74: 217-220.

10- Malekzadeh F. *Microbiology*.2nd ed. In Tehran University press; 1994; 21- 50.

11- Naderinasab M, Rashed T, Nazem M. *Laboratory bacteriology* In Mashhad: Imam Reza press: 1997; 24- 29.

12- Manna A, Abalaka ME. *Preliminary screening of the various extracts of Physalis angulata (L.) for antimicrobial activities*. Spectrum J. 2000; 7(2): 119- 125.

13- Shariff ZU. *Modern herbal therapy for common ailments. Nature pharmacy series* In Spectrum Books limited. United Kingdom. 2001; 9- 84.

14- Tape B, Donmez E, Vnlu M, Candan F, Daferera D, Sokmen A. *Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and various extracts of Salvia cryptantha and Salvia multicaulis.* Food Chem. 2004; 84: 519- 525.

15- Valero M, Salmeron M. *Antimicrobial activity of 11 essential oils against Bacillus cereus in Tyndallized carrot broth.* Int J Food Microbiol. 2003; 85: 73-81.

16- Babayi H, Kolo I, Okogun J, Ijah U. *The antimicrobial activities of methanolic extracts of Eucalyptus camaldulensis and Terminalia catappa against some pathogenic microorganisms*. Biokemistri. 2004; 16(2): 106-11.

17- Collins I, Mehomood Z, Mohammed F. *Screening of some Indian medicinal plants for their antimicrobial properties*. J. Ethnopharmacol. 1998; 62(2): 183- 193.

18- Baner A, Kirby W, Truck M. *Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method.* Am. J. Clin. Pathology. 1991; 45: 493-496.

19- Vanden DA, Vlietinck AJ. In: Dey PM, Harborne JB. *Methods in plant biochemistry: Screening methods for antibacterial and antiviral agents from higher plants.* Academic Press. 1991; 47- 69.

20- Osawa K. *Macrocarpals H.I and J form the leaves of eucalyptus globulus*. J Nat Prod. 1996; 59(9): 823-827.

21- Panttnaik S. *Antibacterial and antifungal activity of ten essential oils in vitro*. Microbios.1996; 86(349): 237-246.

22- Adeniyi BA, Lawal TO, Olaleye SB. *Antimicrobial and gastro protective activities of Eucalyptus camaldulensis (Myrtaceae) crude extracts*. J Bio Sci. 2006; 6(6): 1141-1145.

23- Sattari M, Shahbazi N, Najjar Sh. *The antibacterial activity of methanolic extract of Eucalyptus against Pseudomonas aeroginosa*. J Tarbiat Modarres. 2005; 8(1): 19-23.

24- Osava K, Yasuda H, Morita H. *Eucalyptol from Eucalyptus globolus*. Phytochem. 1995; 40: 183- 184.

25- Ahmad I, Mehomood Z, Mohammed F. *Screening of some Indian medicinal plants for their antimicrobial properties*. J. Ethnopharmacol. 1998; 62(2):183-193.

26- Dalziel JM. *The useful plants of west tropical Africa.* Longman group limited, phlippines.1995; 156- 160.

27- Tassou CC, Nychas GJ. *Antimicrobial activity of the essential oil of Mastic fum on gram – positive and gram – negative bacteria in broth and model food systems*. Int. Biodeterio. biodegrad. 1995; 36: 411- 20.

28- Zakarya D, Fkih – Tetouani S, Hajji F. *Chemical composition – antimicrobial activity relationship of Eucalyptus essential oils*. Plants medicinal et Phytothrapie. 1993; 26: 319- 33.

www.SID.ir

Archive of SID

www.SID.ir