مجله دانشگاه علوم پزشکی قم
دوره هشتم، شماره پنجم، زمستان ۹۳
ویژه‌نامه طب سنتی
صفحه ۳۴الی ۴۱

مقاله پژوهشی
(Original Article)

# تأثیر ضدمیکروبی عصاره‌های آبی و اتانولی کرفس کوهی بر *انتروکوکوس فکالیس* و *سالمونلا تیفی* در شرایط آزمایشگاهی

مریم حیدری سورشجانی[1*]، سیدعلی مرتضوی[2]، فریده طباطبایی یزدی[3]، فخری شهیدی[2]

[1]دانشجوی کارشناس ارشد علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.

[2]استاد علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.

[3]دانشیار علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.

[*] نویسنده مسئول مکاتبات:
**مریم حیدری سورشجانی**، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران؛

آدرس پست الکترونیکی:
maryam.heidari67@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۹۲/۵/۵

تاریخ پذیرش: ۹۲/۷/۱۱

## چکیده

**زمینه و هدف:** افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی در اثر مصرف داروهای ضدمیکروبی، همچنین عوارض جانبی و اثرات سوءمتفاوت آنها باعث شده است در سالهای اخیر بررسی گیاهان دارویی به‌منظور کشف منابع جدید دارویی علیه عفونت‌های باکتریایی مورد توجه قرار گیرد. این مطالعه با هدف تعیین اثر ضدمیکروبی عصاره‌های آبی و اتانولی برگ کرفس کوهی علیه *Enterococcus faecalis* (PTTC 1609) و *Salmonella typhi* (PTTC 1349) انجام شد.

**روش بررسی:** در این پژوهش تجربی، فعالیت ضدباکتریایی عصاره‌ها با استفاده از روش پخش عصاره در سطح محیط کشت و روش انتشار در آگار به کمک دیسک بررسی شد. حداقل غلظت مهارگنندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) نیز به روش رقت لوله‌ای تعیین گردید. تجزیه و تحلیل نتایج با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه انجام شد.

**یافته‌ها:** در روش انتشار در آگار، همه غلظت‌های عصاره اتانولی بر *انتروکوکوس فکالیس* اثر بازدارندگی داشت. MIC عصاره‌های آبی و اتانولی برای *انتروکوکوس فکالیس* به ترتیب ۳۲ و ۱۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و برای *سالمونلا تیفی* به ترتیب ۶۴ و ۳۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. MBC عصاره‌های آبی و اتانولی برای *انتروکوکوس فکالیس* به ترتیب ۶۴ و ۳۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و *سالمونلا تیفی* به ترتیب برابر ۱۲۸ و ۶۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تعیین شد.

**نتیجه‌گیری:** نتایج نشان داد عصاره اتانولی برگ کرفس کوهی در مقایسه با عصاره آبی در شرایط آزمایشگاهی، اثر بازدارندگی بیشتری روی سویه‌های مورد مطالعه دارد.

**کلید واژه‌ها:** *کرفس کوهی*؛ *سالمونلا تیفی*؛ *انتروکوکوس فکالیس*؛ عوامل ضدمیکروبی.

لطفاً به این مقاله به‌صورت زیر استناد نمایید:

**Heidari Sureshjani M, Mortazavi SA, Tabatabaei Yazdi F, Shahidi F. The antimicrobial effect of aqueous and ethanolic extracts of *Kelussia odoratissima* on *Enterococcus faecalis* and *Salmonella typhi*in vitro. Qom Univ Med Sci J 2015;8(5):34-41.**

## مقدمه

بیماری‌های عفونی یکی از مهم‌ترین عوامل مرگ و میر، به‌خصوص در کشورهای جهان سوم است. استفاده از آنتی‌بیوتیک‌های موجود، علاوه بر گران‌بودن و مقرون به‌صرفه نبودن تولید آنها، مشکلاتی همچون مقاوم‌شدن ایزوله‌های بیماری‌زا را نیز در پی دارد. از طرف دیگر، مصرف طولانی و حتی مقطعی آنتی‌بیوتیک‌ها، عوارض جانبی برجا می‌گذارد که بعضاً ممکن است از خود بیماری نیز خطرناک‌تر باشد. به‌همین دلیل تهیه آنتی‌بیوتیک‌های جدید ضروری به‌نظر می‌رسد. با گذشت زمان با افزایش تعداد گیاهان دارویی شناخته‌شده، زمینه‌های کاربرد آنها گسترده‌تر شده است. مواد اولیه و مؤثر موجود در گیاهان همواره به‌صورت ذخیره به‌عنوان مواد غیرقابل جایگزین مورد استفاده بوده است (۲،۱). کرفس کوهی (*Kelussia odoratissima*) با نام محلی کلوس به‌عنوان گونه‌ای جدید از جنس جدید *Kelussia* از تیره چتریان (*Apiaceae*)، یکی از گیاهان تغذیه‌ای، مرتعی و بومی ایران است که تاکنون از سایر مناطق دیگر جهان گزارش نشده است. این گیاه در ارتفاعات و مناطق برفگیر ناحیه زاگرس مرکزی و با حداقل ارتفاع ۲۵۰۰ متر از سطح دریا و بارش سالیانه (حدود ۴۰۰ میلی‌متر) که اغلب به‌صورت برف می‌باشد، می‌روید. از عمده‌ترین رویشگاه‌های طبیعی این گیاه می‌توان به ارتفاعات کوههای سه منطقه کوهرنگ، بازفت و دوآب صمصامی در استان چهارمحال و بختیاری اشاره کرد (۴،۳).

باکتری‌های جنس انتروکوکوس؛ ارگانیسم‌هایی گرم مثبت، کاتالاز منفی، تخم‌مرغی شکل و غیراسپورزا، بی‌هوازی اختیاری، هموفرمانتاتیو با احتیاجات غذایی پیچیده هستند که اغلب در اکثر سبزیجات، گیاهان و مواد غذایی، به‌خصوص غذاهایی با منشأ حیوانی مانند محصولات لبنی یافت می‌شوند. آنها همچنین قسمتی از فلور میکروبی طبیعی روده بعضی از پستانداران و انسان را تشکیل می‌دهند. *انتروکوکوس فکالیس*، سویه غالب از انتروکوکسی در دستگاه گوارش انسان بوده که به گفته محققان در بروز سرطان روده بزرگ مؤثر است (۵). آلودگی سالمونلایی در انسان به‌صورت مسمومیت غذایی، گاستروآنتریت، تب تیفوئید و گاهی اوقات سپتی‌سمی بروز می‌کند. غذاهای حیوانی محل مناسبی برای سروتیپ‌های سالمونلا بوده و از این لحاظ به‌عنوان یک منبع آلودگی مهم برای سالمونلاهای غیرتیفوئیدی در انسان محسوب می‌شوند. غذاهایی از قبیل گوشت ماکیان و محصولات گوشتی نیز منشأ سالمونلوزیس‌های ناشی از مصرف مواد غذایی هستند.

سروتیپ‌هایی مانند *Salmonella typhi* و *Salmonella paratyphi* بیشتر با انسان سازگار بوده و در میزبان‌های غیرانسانی، بیماری ایجاد نمی‌کنند (۶). با توجه به اهمیت روزافزون گیاهان دارویی به‌عنوان جایگزین آنتی‌بیوتیک‌ها، همچنین وجود ترکیبات فعال بیولوژیکی موجود در گیاه کرفس کوهی و وجود این گیاه در استان چهارمحال و بختیاری، این مطالعه با هدف تعیین اثر ضدمیکروبی عصاره‌های آبی و اتانولی برگ کرفس کوهی علیه *Enterococcus faecalis* (PTTC 1609) و *Salmonella typhi* (PTTC 1349) انجام شد.

## روش بررسی

این پژوهش آزمایشگاهی در آزمایشگاه میکروب صنعتی و آزمایشگاه فناوری‌های نوین گروه علوم و صنایع غذایی دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد انجام شد. گیاه کرفس کوهی در ابتدای دوره رویشی گیاه (اردیبهشت ماه) از ارتفاعات شهرستان کوهرنگ واقع در استان چهارمحال و بختیاری جمع‌آوری و با همکاری هرباریوم و آزمایشگاه سیستماتیک گیاهی دانشکده علوم پایه و پژوهشکده علوم دانشگاه فردوسی مشهد شناسایی شد. برگهای کرفس کوهی پس از تمیز شدن در شرایط مناسب (سایه) خشک و به‌وسیله آسیاب آزمایشگاهی مدل Waring پودر گردید. باکتری‌های مورد استفاده *Enterococcus faecalis* (PTTC 1609) و *Salmonella typhi* (PTTC 1349) *بودند*. جهت تهیه عصاره‌های آبی و اتانولی به روش خیساندن (Maceration)، ۱۰۰ گرم از برگهای پودرشده گیاه به ارلن حاوی ۴۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر و اتانول ۹۶ درجه اضافه شد و ارلن به مدت ۷۲ ساعت در دمای اتاق بر روی دستگاه همزن مغناطیسی قرار گرفت تا استخراج عصاره به‌طور کامل انجام گیرد. جهت تهیه عصاره‌های آبی و اتانولی به روش هضم (Digestion)، ۱۰۰ گرم از برگهای

پودرشده گیاه به ارلن حاوی ۴۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر و اتانول ۹۶ درجه اضافه شد و ارلن به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۵۰-۴۰ درجه سانتیگراد در انکوباتور شیکردار قرار گرفت. سپس مخلوط حلال و گیاه به‌وسیله صافی از هم جدا شدند تا عصاره‌های اولیه به دست آید. عصاره‌های اولیه حاصل به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۳۰۰۰ سانتریفوژ شدند. سپس عصاره حاصل وارد دستگاه تقطیر در خلاء (روتاری) شده و در دمای ۸۰ درجه سانتیگراد، حلال آنها به مدت یک‌ساعت تبخیر و عصاره‌های تغلیظ‌شده به دست آمد. عصاره‌های تغلیظ‌شده در ظرف تیره استریل غیرقابل نفوذ نسبت به هوا و نور ریخته شد و تا زمان مصرف در ۴ درجه سانتیگراد نگهداری شد (۷). برای تعیین وزن خشک عصاره کرفس کوهی، ابتدا وزن یک لوله آزمایش تعیین و یک میلی‌لیتر از عصاره‌های آبی و اتانولی در آن ریخته شد. سپس محتوی لوله در دمای اتاق خشک گردید. بعد از خشک‌شدن عصاره، وزن لوله آزمایش مجدداً تعیین شد (اختلاف وزن لوله معادل یک میلی‌لیتر از عصاره‌ها بود). میانگین ۳ بار تکرار، به‌عنوان وزن خشک عصاره‌ها محاسبه گردید (۸). برای تهیه سوسپانسیون میکروبی، ۲۴ ساعت قبل از انجام آزمایش، از کشت ذخیره به محیط کشت شیب‌دار *(Muller Hinton Agar)* تلقیح شد. سپس بعد از رشد باکتری بر سطح شیب‌دار آگار، سوسپانسیون غلیظ میکروبی با استفاده از محلول رینگر تهیه گردید. در ادامه، کدورت سوسپانسیون حاصل به‌وسیله اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۳۰ نانومتر اندازه‌گیری و تا برابرشدن کدورت محلول، کدورتی معادل ۰/۵ مک‌فارلند ($1/5\times10^8$cfu/ml) با محلول رینگر رقیق شد (۸). برای تعیین فعالیت ضدباکتریایی عصاره‌های آبی و اتانولی کرفس کوهی از روش انتشار در آگار به کمک دیسک و روش پخش عصاره در سطح محیط کشت (تمام ظرف) استفاده شد. در روش تمام ظرف، پس از افزودن ۰/۲ گرم از عصاره اتانولی به ۵ میلی‌لیتر آب مقطر استریل، مخلوط حاصل به کمک دستگاه ورتکس هم زده شد. سپس یک میلی‌لیتر از این محلول به ظرف‌های پتری استریل اضافه گردید. محیط کشت استریل مولر هینتون آگار (مرک آلمان) به ظرف‌های پتری اضافه و پس از بسته‌شدن محیط، یک لوپ از کشت استاندارد هر سوش بر روی این محیط‌ها کشت داده شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد قرار گرفت (۹). در روش انتشار در آگار به کمک دیسک، ابتدا $1/5\times10^8$cfu/ml (معادل استاندارد ۰/۵ مک‌فارلند) از کشت استاندارد هر سوش بر روی سطح محیط آگار کشت داده شد و به‌وسیله اسپریدر شیشه‌ای استریل بر سطح آگار پخش شد. دیسک‌هایی که قبلاً در غلظت‌های مشخص عصاره (۲۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در هر دیسک) خیسانده شده بود به‌وسیله پنس استریل با کمی فشار بر سطح محیط کشت ثابت شده و پتری‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد گرمخانه‌گذاری شدند، سپس با استفاده از خط‌کش به‌طور دقیق قطر هاله عدم رشد برحسب میلی‌متر اندازه‌گیری شد. تمامی آزمایشها با ۳ تکرار انجام گرفت (۱۰). برای تعیین حداقل غلظت ممانعت‌کنندگی (Minimum Inhibitory Concentration) از روش رقت لوله‌ای استفاده گردید، به‌طوری‌که برای هر عصاره از یک سری ۹ تایی لوله آزمایش استریل استفاده شد. ۸ لوله برای آزمایش رقت‌های مختلف هر عصاره (با دوز ۲، ۴، ۸، ۱۶، ۳۲، ۶۴، ۱۲۸ و ۲۵۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) و یک لوله به‌عنوان کنترل منفی در نظر گرفته شد. پس از کشت، تمام لوله‌های آزمایش به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد گرمخانه‌گذاری شدند. سپس لوله‌ها از نظر کدورت ناشی از رشد باکتری‌های تلقیح‌شده مورد بررسی قرار گرفتند و پایین‌ترین غلظتی که در آن کدورتی مشاهده نشد و کاملاً شفاف بود، به‌عنوان MIC، در نظر گرفته شد (۱۲،۱۱). برای تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی (Minimum Bactericidal Concentration, MBC) رشد عصاره‌های آبی و اتانولی کرفس کوهی، برای هر عصاره از یک سری ۹ تایی لوله آزمایش استریل استفاده گردید، ۸ لوله برای آزمایش رقت‌های مختلف هر عصاره (با دوز ۲، ۴، ۸، ۱۶، ۳۲، ۶۴، ۱۲۸ و ۲۵۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)، و یک لوله به‌عنوان کنترل به کار گرفته شد. پس از کشت، تمام لوله‌های آزمایش به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد گرمخانه‌گذاری شدند، سپس از تمام لوله‌هایی که هیچ رشدی در آنها مشاهده نشده بود نمونه‌برداری و جهت تعیین MBC به روش آمیخته کشت داده شد. لوله‌هایی که حاوی کمترین غلظت عصاره بودند و در پلیت مربوط به آنها هیچ رشدی مشاهده نشده بود به‌عنوان MBC

در نظر گرفته شدند (۱۳). داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ و آزمون واریانس یک‌طرفه تجزیه و تحلیل شدند. برای مقایسه میانگین‌ها از روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ استفاده گردید.

## یافته‌ها

درصد استحصال عصاره مربوط به روش هضم، برای عصاره‌های آبی و اتانولی کرفس کوهی به ترتیب ۱۱ و ۱۳٪ و به روش خیساندن ۸ و ۱۲٪ به دست آمد. عصاره آبی ( یک مثبت) و عصاره اتانولی (دو مثبت) بر روی *انتروکوکوس فکالیس* در غلظت ۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر مؤثر بود و از رشد آن روی محیط کشت جلوگیری کرد.

در این غلظت هیچ‌کدام از عصاره‌ها اثر ضدباکتریایی روی *سالمونلا تیفی* نداشت. عصاره اتانولی برگ گیاه کرفس کوهی در تمامی غلظت‌ها روی *انتروکوکوس فکالیس* و در غلظت‌های ۶۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و ۸۰ بر روی *سالمونلا تیفی* دارای اثر بازدارندگی بود. در مورد تأثیر عصاره آبی روی *انتروکوکوس فکالیس* در غلظت‌های ۴۰، ۶۰ و ۸۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره آبی از رشد این باکتری جلوگیری کرد، اما در غلظت ۲۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر اثر بازدارندگی نداشت. همچنین غلظت‌های ۲۰،۴۰ و۶۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره آبی روی *سالمونلا تیفی* مؤثر نبود و فقط غلظت ۸۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره آبی برگ گیاه کرفس کوهی اثر بازدارندگی داشت (جدول شماره ۱).

**جدول شماره ۱: میانگین قطر هاله عدم رشد *انتروکوکوس فکالیس* و *سالمونلا تیفی* برحسب میلی‌متر در حضور عصاره‌های اتانولی و آبی برگ گیاه کرفس کوهی (انتشار در آگار)**

| نوع عصاره | میکروارگانیسم | غلظت عصاره برگ گیاه کرفس کوهی (میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | ۸۰ | ۶۰ | ۴۰ | ۲۰ |
| اتانولی | *انتروکوکوس فکالیس* | ۱۸/۴۰±۰/۵۳[d] | ۱۵/۶۰±۰/۲۸[c] | ۱۳/۹۰±۰/۵۵[b] | ۱۲/۳۰±۰/۵۷[a] |
| اتانولی | *سالمونلا تیفی* | ۱۴/۴۰±۰/۵۷[d] | ۱۲/۷۰±۰/۲۸[c] | - | - |
| آبی | *انتروکوکوس فکالیس* | ۱۴/۵۰±۰/۵۲[d] | ۱۲/۷۰±۰/۵۷[c] | ۱۰/۵۰±۰/۵۳[b] | - |
| آبی | *سالمونلا تیفی* | ۱۲/۹۰±۰/۵۵[d] | - | - | - |

- **علامت (-)، نشان‌دهنده عدم وجود فعالیت ضدباکتری عصاره‌های آبی و اتانولی برگ گیاه کرفس کوهی می‌باشد.**
- **حروف غیرمشابه در یک ردیف، نشان‌دهنده وجود تفاوت معنی‌دار میان اثر ضدمیکروبی غلظت‌های مختلف می‌باشد.**

MIC عصاره اتانولی برگ گیاه کرفس کوهی برای *انتروکوکوس فکالیس* و *سالمونلا تیفی* به ترتیب ۱۶ و ۳۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود، درحالی‌که MIC عصاره آبی برای *انتروکوکوس فکالیس* و *سالمونلا تیفی* به ترتیب ۳۲ و ۶۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تعیین شد (جدول شماره ۲).

**جدول شماره ۲: نتایج حداقل غلظت مهارکنندگی رشد (MIC) عصاره‌های اتانولی و آبی عصاره برگ گیاه کرفس کوهی بر *انتروکوکوس فکالیس* و *سالمونلا تیفی***

| نوع عصاره | میکروارگانیسم | غلظت عصاره برگ گیاه کرفس کوهی (میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | ۲ | ٤ | ۸ | ١٦ | ۳۲ | ٦٤ | ۱۲۸ | ۲٥٦ | کنترل |
| اتانولی | *انتروکوکوس فکالیس* | - | - | - | + | + | + | + | + | - |
| اتانولی | *سالمونلا تیفی* | - | - | - | - | + | + | + | + | - |
| آبی | *انتروکوکوس فکالیس* | - | - | - | - | + | + | + | + | - |
| آبی | *سالمونلا تیفی* | - | - | - | - | - | + | + | + | - |

**+: عدم رشد؛ -: رشد**

MBC عصاره اتانولی و عصاره آبی برگ گیاه کرفس کوهی برای *انتروکوکوس فکالیس* به ترتیب ۳۲ و ۶۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود و MBC عصاره اتانولی و عصاره آبی برگ گیاه کرفس کوهی برای *سالمونلا تیفی* به ترتیب برابر با ۶۴ و ۱۲۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تعیین شد (جدول شماره ۳).

**جدول شماره ۳: نتایج حداقل غلظت کشندگی (MBC) عصاره‌های متانولی و آبی عصاره برگ گیاه کرفس کوهی بر *انتروکوکوس فکالیس و سالمونلا تیفی***

| نوع عصاره | میکروارگانیسم | غلظت عصاره برگ گیاه کرفس کوهی (میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | ۲ | ٤ | ۸ | ١٦ | ۳۲ | ٦٤ | ۱۲۸ | ۲٥٦ | کنترل |
| اتانولی | *انتروکوکوس فکالیس* | − | − | − | - | + | + | + | + | − |
| اتانولی | *سالمونلا تیفی* | − | − | − | − | - | + | + | + | − |
| آبی | *انتروکوکوس فکالیس* | − | − | − | − | - | + | + | + | − |
| آبی | *سالمونلا تیفی* | − | − | − | − | − | - | + | + | − |

**+: عدم رشد؛ −: رشد**

## بحث

در دهه اخیر به دلیل بروز مقاومت‌های دارویی، گیاهان دارویی به‌عنوان مخازن طبیعی دارویی مورد توجه قرار گرفته‌اند. امروزه، مواد شیمیایی استخراجی از گیاهان به دلیل داشتن عوارض جانبی کمتر، به‌عنوان ترکیبات ضدمیکروبی جایگزین داروهای سنتتیک مطرح هستند. در همین راستا، با توجه به تنوع آب و هوایی و در نتیجه فلور گیاهی بسیار متنوع در ایران، امکان شناسایی و استخراج مواد مؤثر در گیاهان بومی کشور در سطح صنعتی وجود دارد (۱۵،۱۴).

درصد عصاره حاصله با روش هضم، برای عصاره‌های آبی و اتانولی کرفس کوهی به ترتیب ۱۱ و ۱۳٪ و به روش خیساندن ۸ و ۱۲٪ بود. این نکته حایز اهمیت است که برای به دست آوردن بهترین و مؤثرترین عصاره، توجه به مواردی از جمله خصوصیات ماده گیاهی، انتخاب حلال مناسب و دقت در مراحل عصاره‌گیری ضروری بوده و باید در نظر داشت که بازده بالا در عصاره حاصله به معنای بازده بالای ترکیب مورد نظر در عصاره نیست (۱۶).

نتایج حاصل از اندازه‌گیری قطر هاله عدم رشد نشان داد باکتری گرم مثبت *انتروکوکوس فکالیس* در مقایسه با باکتری گرم منفی *سالمونلا تیفی* حساسیت بیشتری دارد (جدول شماره ۱). حساسیت بیشتر باکتری‌های گرم مثبت در مقابل عوامل ضدمیکروبی در مطالعات مختلف مطرح و مورد تأیید قرار گرفته است، که این مسئله ممکن است به‌علت اختلاف ساختمانی دیواره‌های باکتری‌های گرم مثبت و منفی باشد.

باکتری‌های گرم مثبت در دیواره سلولی خود دارای ترکیب موکوپپتید بوده، درحالی‌که باکتری‌های گرم منفی فقط لایه نازکی از موکوپپتید دارند و قسمت اعظم ساختمان دیواره در آنها لیپوپروتئین و لیپوپلی‌ساکارید می‌باشد. به‌همین علت در مقابل مواد ضدباکتریایی مقاوم‌ترند (۱۷،۸). Hoque و همکاران (سال ۲۰۰۸) فعالیت ضدمیکروبی عصاره میخک و دارچین در مقابل باکتری‌های بیماری‌زا را با منشأ غذایی و باکتری‌های عامل فساد مورد بررسی قرار دادند، آنها گزارش کردند عصاره‌های آبی و اتانولی میخک و عصاره اتانولی دارچین مؤثر علیه باکتری‌های گرم مثبت نسبت به باکتری‌های گرم منفی، در شرایط آزمایشگاهی اثر ضدمیکروبی بیشتری از خود نشان می‌دهند (۱۸). همچنین Tian و همکاران (سال ۲۰۰۹) در بررسی اثرات ضدباکتریایی *Galla chinesis* (نوعی گیاه دارویی بومی کشور چین)، گزارش دادند باکتری‌های گرم مثبت (*Bacillus cereus* و *Staphylococcus aureus*) در مقابل عصاره‌های گیاهی حساسیت بیشتری نسبت به باکتری‌های گرم منفی (*Escherichia coli* و *Shegilla dysentery*) دارند که نتایج این بررسی‌ها با یافته‌های به دست آمده در مطالعه حاضر همخوانی داشت (۱۹). نتایج آنالیز یک‌طرفه نشان داد با افزایش غلظت عصاره‌های آبی و اتانولی برگ گیاه کرفس کوهی، هاله بازدارندگی به‌طور معنی‌داری در سطح $p<۰/۰۵$ افزایش می‌یابد که می‌توان وجود تفاوت معنی‌دار میانگین قطر هاله عدم رشد غلظت‌های مختلف را به مقدار ماده مؤثر موجود در عصاره‌ها نسبت داد (جدول شماره ۱).

در مطالعات دیگر نیز محققین افزایش اثر ضدمیکروبی عصاره‌های گیاهان مختلف را با افزایش غلظت عصاره تأیید کرده‌اند به‌عنوان مثال جلالی و همکاران (سال ۱۳۸۶) گزارش کردند با افزایش غلظت عصاره‌های گیاه سگ‌دندان خاردار *(Pycnocycla Spinosa Decne)*، قطر هاله بازدارندگی رشد افزایش می‌یابد (۱۵). همچنین Suresh و همکاران (سال ۲۰۰۸) اثر ضدمیکروبی عصاره اتانولی گیاه *(Rauvolfia tetraphylla)* را بر باکتری‌ها و قارچ‌های متفاوتی در شرایط آزمایشگاهی بررسی کردند. نتایج این پژوهش نشان داد فعالیت بازدارندگی عصاره اتانولی این گیاه فعالیتی وابسته به غلظت است و می‌توان گفت با افزایش غلظت عصاره، قطر هاله بازدارندگی نیز افزایش می‌یابد (۲۰).

در مطالعه حاضر عصاره اتانولی برگ گیاه کرفس کوهی در مقایسه با عصاره آبی برگ گیاه کرفس کوهی، اثر بازدارندگی بیشتری روی سوش‌های مورد مطالعه داشت که علت آن درصد استحصال بیشتر عصاره اتانولی نسبت به عصاره آبی و در نتیجه استخراج بیشتر مواد مؤثر در برگ گیاه کرفس کوهی به‌وسیله حلال اتانول بود (جدول شماره ۱). همچنین در بررسی انجام‌شده توسط Rakshit و همکاران (سال ۲۰۱۱) نشان داده شد عصاره اتانولی گیاه *Scindapsus officinalis*، اثر ضدمیکروبی بیشتری بر باکتری‌های *اشرشیاکلی، سالمونلا تیفی، استافیلوکوکوس اروئوس* و *کلبسیلا پنومونیا* در مقایسه با عصاره آبی این گیاه دارد که نتایج این پژوهشگران با یافته‌های مطالعه حاضر همخوانی داشت (۲۱). در مطالعه انجام‌شده توسط سلیمی و همکاران (سال ۱۳۸۹) نیز مشخص گردید عمده‌ترین ترکیبات موجود در اسانس اکوتیپ‌های کرفس کوهی در استان چهارمحال و بختیاری را سپس - لیگوستیلید (Z-ligustilid)، ۳ ترانس- بوتیلیدن فتالید، ترانس – لیگوستیلید کسان، اسپاتولنول، گلوبولول، بوتیل فتالید، بتا - سلینن، لیگوستیلید، بوتیلیدن فتالید و پنتیل بنزن تشکیل می‌دهند که حدود ۸۸/۶٪ از این ترکیبات، اسانس این اکوتیپ‌ها می‌باشد (۴). اسعدیه شجاعی و همکاران (سال ۱۳۹۰) نیز در مطالعه‌ای روی سه اکوتیپ کرفس کوهی مربوط به نواحی کوهرنگ، بازفت و صمصامی در استان چهارمحال و بختیاری نشان دادند بیشترین ترکیبات شیمیایی موجود در کرفس کوهی، سه ماده فتالیدی سیس - لیگوستیلید، ترانس - لیگوستیلید و ۳ ترانس- بوتیلیدن فتالید می‌باشند (۲۲)، که به‌نظر می‌رسد بیشترین اثر ضدباکتریایی گیاه کرفس کوهی مربوط به این ترکیبات است. بدین ترتیب می‌توان اثرات ضدباکتریایی این گیاه را به‌وجود ترکیبات بیولوژیکی فعال مذکور در این گیاه و یا سایر ترکیبات ناشناخته نسبت داد. در مطالعه حاضر بیشترین مقاومت مربوط به باکتری گرم منفی *سالمونلا تیفی* بود (جدول شماره ۲ و ۳). در این مطالعه اثر ضدمیکروبی برگ کرفس کوهی نیز به‌عنوان یکی دیگر از اعضای خانواده چتریان بررسی شد تا در تکمیل یافته‌های فارماکولوژیکی بتوان اطلاعات کامل‌تری از خواص این گیاه به دست آورد. لذا در گام‌های بعدی باید به مطالعه اثرات ضدمیکروبی اندام‌های دیگر گیاه پرداخته شود. با توجه به غلظت بیشتر ماده مؤثره در اسانس گیاه، به احتمال بسیار قوی مطالعه اثرات ضدمیکروبی اسانس گیاه، اثرات ضدمیکروبی بهتری را نشان خواهد داد.

## نتیجه‌گیری

نتایج این تحقیق نشان داد عصاره برگ کرفس کوهی در شرایط in vitro دارای قابلیت ضدباکتریایی قابل‌ملاحظه‌ای بر روی سویه‌های مورد مطالعه دارد. در این خصوص لازم است مطالعات بیشتری در شرایط in vivo انجام گیرد تا عواملی همچون دوزاژ مؤثر این عصاره بر باکتری‌های مورد نظر ارزیابی شود و در نهایت بتوان این عصاره را به‌عنوان یک ماده ضدمیکروبی طبیعی و جدید معرفی کرد.

## تشکر و قدردانی

بدین وسیله از خانم دکتر عادله حیدری، آقای مهندس بهروز علیزاده بهبهانی و خانم مهندس شهناز افشاریان که در فراهم کردن مواد لازم و انجام آزمایشها ما را یاری کردند، قدردانی می‌شود.

## References:


1. Volak J, Stodola J. Medicinal plants. Zaman S, Translator. Tehran: Ghoghnuos Press; 2011. p. 7-10. [Text in Persian]

2. Ayepola OO, Adeniyi BA. The antibacterial activity of leaf extracts of Eucalyptus camaldulensis (Myrtaceae). J Appl Sci Res 2008;4(11):1410-13.

3. Mozafarian V. Umbelliferae of flora of Iran. Tehran: Forests and Rangeland Research Institute Press; 2007. p. 54,347. [Text in Persian]

4. Salimi M, Ebrahimi A, Shojaei Asadiye Z, Saaei Dehkordi S. Essential oil copmposition of Kelussia odoratissima Mozaff. Iran J Med Arom Plant 2010;26(2):147-56. [Full Text in Persian]

5. Rasuli Piruzian H, Hesari J, Farajnia S. Isolation and identification of strains of Enterococcus faecalis and Enterococcus faecium of Lighvan traditional cheese. 18th National Congress on Food Technology; 2008. [Text in Persian]

6. Shapoori R, Rahnama M, Eghbalzadeh SH. Prevalence of salmonella serotypes in poultry meat and egg and determine their antibiotic sensivity in Zanjan city. Q J Biol Sci 2009;2(3):63-71. [Full Text in Persian]

7. Samsam Shariat H. Extraction of effective components from medicinal plants and their diagnostic and evaluation methods. Esfehan: Mani Press; 1992. p. 8-20. [Text in Persian]

8. Soltaninejad Sh, Sataei Mokhtari T, Soltaninejad M. In vitro antibacterial activity of methanolic extract of eucalyptus leaves against Staphylococcus aureus, Escherichia coli and Streptococcus pyogenes in vitro. J Microbial Biotech Res Islamic Azad Univ 2010;2(4):21-8. [Full Text in Persian]

9. Babayi H, Kolo I, Okogun JI, Ijah UJJ. The antimicrobial activities of methanolic extracts of Eucalyptus camaldulensis and Terminalia catappa against some pathogenic microorganisms. Nigerian Soc Exp Biol 2004;16(2):106-11.

10. Awoyinka OA, Balogun IO, Ogunnowo AA. Phytochemical screening and in vitro bioactivity of cnidoscolus aconitifolius (Euphorbiaceae). J Med Plant Res 2007;1(3):63-5.

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

12. Tape B, Donmez E, Unlu M, Candan F, Daferera D, Vardar-Unlu G, Polissiou M, Sokmen A. Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and various extracts of Salvia cryptantha and Salvia multicaulis. Food Chem 2004;84(4):519-25.

13. Espinel-Ingroff A, Fothergill A, Peter J, Rinaldi M, Walsh T. Testing conditions for determination of minimum fungicidal concentrations of new and established antifungal agents for Aspergillus spp: NCCLS collaborative study. J Clin Microbiol 2002;40(9):3204-8.

14. Abbasi N, Abdi M, Azizi Jalilian F, Seifmanesh M. Study of effect of extract of Scrophularia striata Boiss on Staphylococcus aureus and Pseudomonas aeruginosa in comparison with choice effective antibiotics. J Med Plant 2006;6;10-18. [Full Text in Persian]

15. Jalali M, Abedi D, Asghari GH, Rezaei Z. A study of anti-microbial effect of pycnocycla spinosa's fruit extracts. J Mazandaran Univ Med Sci 2007;17(59):76-86. [Full Text in Persian]

16. Zolfaghari B, Yekdane A. Recent advances in the methods of herbal components extraction. J Med Plant 2010;1:51-5. [Full Text in Persian]

17. Soltaninejad SH, Sataei Mokhtari T, Rahbarian P. The study of antibacterial effect of the essential oil and methanol extracts of ziziphora cliniopodiodes on some pathogenic bacteria. J Microbial Biotechnol Res 2010;2:1-6. [Full Text in Persian]

18. Hoque MM, Inatsu ML, Juneja VK, Kawamoto S. Antimicrobial activity of cloves and cinnamon extracts against food borne pathogens and spoilage bacteria, and Inactivation of Listeria monocytogenes in ground chicken meat with their essential oils. Nat Food Res Inst 2008;72:9-21.

19. Tian F, Li B, Ji B, Yang J, Zhang G, Chen Y. et al. Antioxidant and antimicrobial activities of consecutive extracts from Galla chinensis: The polarity affects the bioactivities. Food Chem 2009;113(1):173-9.

20. Suresh K, Babu SS, Harisaranraj R. Studies on in vitro antimicrobial activity of ethanol extract of Rauvolfia tetraphylla. J Ethnobot Leaf 2008;12:586-90.

21. Rakshit ST, Pachute AP, Singh A, Baghel A, Patel BD. Antibacterial activity of aqueous and ethanolic extracts of Scindapsus officinalis (Roxb.) Schott. Adv Biol Res 2011;5(2):77-80.

22. Asadiyeh Shojaei Z, Ebrahimi A, Salimi M. Chemical composition of three ecotypes of Wild Celery (Kelussia odoratissima). J Herb Spices Med Plant 2011;17(1):62-8.