

بررسی اثر ضد میکروبی سه گونه از گیاهان تیره نعناع (کاکوتی، مریم گلی و نعناع)

بر ۱۵ سویه باکتری بیماریزای روده‌ای و عامل مسمومیت غذایی

دکتر صدیقه مهربان - زهرا ملاباشی - دکتر احمد مجد

دانشگاه تربیت معلم، دانشکده علوم، گروه زیست‌شناسی

خلاصه:

در این بررسی مجموعه خواص ضدباکتریایی ۳ گونه گیاهان تیره نعناع شامل کاکوتی، مریم گلی و نعناع مورد مطالعه قرار گرفته است. این بررسی به طور عمده روی عصاره‌های متانولی، استنی و آبی انجام گرفت. عصاره‌گیری با دستگاه سوکسله انجام شد و عصاره‌ها یا غلظتهای یکسان روی ۱۲ سویه بیماریزای و ۳ سویه فرصت طلب بیماریزا مقیم روده مطالعه گردید.

میکروارگانیزم‌های مورد مطالعه که اغلب از مدفوع بیماران و تعدادی از مواد غذایی آلوده جداسازی شده بود، بعد از خالص نمودن مورد مطالعه بیوشیمیایی و سرم‌شناسی قرار گرفتند. این سوشها عبارتند از (سالمونلا پاراتیفی A، سالمونلا پاراتیفی B، سالمونلاتیفی، شیگلادیسانتری، شیگلاسونتی، شیگلافلکسنری، اشرشیاکلی $O_{155}B_8$ ، اشرشیاکلی $O_{157}B_{12}$ ، اشرشیاکلی $O_{157}B_{12}$ ، استفیلوکوکوس اورئوس، باسیلوس سرئوس، کلبسیلا اکسی‌توکا، آئروباکتر ائروژینوزا و پروتئوس میرابلیس). مطالعه اثر ضد میکروبی مطابق روش Kirby & Bauer و با اندازه‌گیری قطر هاله مهار رشد انجام شد. آنتی‌بیوتیک آمیکاسین به عنوان استاندارد استفاده شد. هر آزمایش سه مرتبه تکرار شد. از بررسی قطر هاله‌های عدم رشد نتایج زیر گرفته شد.

- ۱- همه عصاره‌های مورد نظر اثر ضد باکتریایی دارند.
- ۲- از بین سه نمونه به ترتیب مریم گلی، کاکوتی و نعناع میزان

تأثیر ضد میکروبی گونه‌ها افزایش می‌یابد.

۳- مؤثرترین مواد ضد میکروبی حلال متانولی بدست آمد و حلالهای دیگر به ترتیب استنی و آبی بودند.

۴- حساس‌ترین میکروارگانیزم‌ها نسبت به عصاره‌های مورد مطالعه عبارتند از:

(۱) شیگلادیسانتری (۲) کلبسیلاکسی‌توکا

(۳) باسیلوس سرئوس (۴) سالمونلاتیفی

۵- بطور کلی هیچکدام از عصاره‌های مورد مطالعه بر پروتئوس میرابلیس تأثیری نداشتند.

۶- گونه مریم گلی قویترین اثر ضد باکتریایی را بر شیگلادیسانتری نشان داد.

کلمات کلیدی کاکوتی، مریم گلی، نعناع، سالمونلا، شیگلا، اشرشیاکلی

مقدمه:

گیاهان تیره نعناع از زمانهای گذشته در طب سنتی مورد استفاده بوده، بطور معمول در درمان عفونتهای دستگاه گوارش یا دل‌درد بکار می‌رود. امروزه از گیاهان تیره نعناع بصورت ادویه چاشنی در رستورانها و منازل همراه با غذا استفاده می‌شود. بهمین علت در این بررسی باکتریهای بیماریزا و فرصت طلب‌های روده‌ای و عامل مسمومیت غذایی به عنوان موضوع مطالعه در نظر

هدف از این بررسی شناسایی خواص برخی گیاهان تیره نعناع
می باشد که در صورت داشتن خواص ضد میکروبی بر باکتریهای

چاهک ۰/۵ میلی‌لیتر می‌باشد و از متانول و استن و نیز آنتی‌بیوتیک آمیکاسین بعنوان شاهد استفاده شد. پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتیگراد در گرمخانه قرار گرفت. قطر هاله عدم رشد مطابق روش (Kirby & Bauer) اندازه‌گیری شد.

نتایج:

۱- بررسی اثر ضد میکروبی هر سه گونه گیاه از تیره نعناع بر ۱۵ باکتری مورد آزمایش نشان می‌دهد که گیاهان مزبور دارای اثر ضد میکروبی می‌باشند. این اثر در مورد عصاره آبی گیاه تازه و عصاره آبی گیاه خشک شده یکسان بوده و عصاره آبی بر بعضی از باکتریها مؤثر نبود. جدول شماره ۱ و ۲ و ۳

۲- مؤثرترین مواد ضد میکروبی توسط حلال متانولی بدست آمد و حلالهای دیگر به ترتیب عبارتند از استنی و آبی. هیستوگرام شماره ۱ و ۲ و ۳

۳- در مقایسه جداول شماره ۱ و ۲ و ۳ این نتیجه حاصل می‌شود که گیاهان مریم‌گلی و کاکوتی اثر ضد میکروبی بیشتری نسبت به گیاه نعناع بر باکتریهای مورد آزمایش داشته‌اند.

۴- حساس‌ترین میکروارگانیسم‌ها نسبت به عصاره‌های مورد مطالعه عبارتند از (۱) شیگلادیسانتري (۲) کلبسیلا اکسی‌توکا (۳) باسیلوس سرنوس (۴) سالمونلا تیفی. هیستوگرام ۱ و ۲ و ۳

۵- بطور کلی اثر ضد میکروبی عصاره گیاهان این تیره بر باکتریهای گرم مثبت و منفی تقریباً یکسان بود. (جداول ۱ و ۲ و ۳)

۶- قویترین اثر ضد میکروبی مربوط به گیاه مریم‌گلی و بر روی باکتری شیگلادیسانتري مشاهده گردید. هیستوگرام (۱).

۷- بطور کلی هیچکدام از عصاره‌ها بر پروتئوس میرابیلیس تأثیری نداشتند و هاله عدم رشد مشاهده نگردید. هیستوگرام ۱ و ۲ و ۳

۸- نتایج حاصل از اثر ضد میکروبی عصاره‌های متانولی و استنی و آبی گیاهان مزبور بر باکتریهای مورد آزمایش باکتری‌کش (باکتریوسید) بوده است.

بحث:

پژوهشهای انجام شده بر روی سه گونه گیاه از تیره نعناع

شدند. آزمایش‌های بیوشیمیایی مختلفی از جمله (گلوکز، β -گالاکتوزیداز سترات، هیدروژن سولفور، اندل، لیزین، حرکت، فنیل آلانین، آوره‌آز، VP) برای تشخیص دقیق و تفکیک گروههای مختلف انجام شد. علاوه بر مطالعات بیوشیمیایی مذکور آزمایشات کامل سرولوژی به روش آگلوتیناسیون روی لام نیز بعمل آمد و فرمول آنتی‌ژنهای سالمونلا مطابق روش Leminor و تابلوی (Kauffman and White) تعیین شد. سوشهای استافیلوکوکوس اورئوس، باسیلوس سرنوس، باسیلوس سویلیس از مواد غذایی آلوده با کشت در روی محیط‌های انتخابی و انجام بعضی از آزمایشها از جمله لستیناز، کواگولاز، تست آمیدون جداسازی و خالص شد.

۴- تأثیر دادن عصاره‌های تهیه شده روی میکروارگانیسم‌های مورد آزمایش:

الف - تهیه سوسپانسیون میکروبی: از کشت ۲۴ ساعته و خالص هر یک از ۱۵ میکروارگانیسم‌های مورد مطالعه با سواب استریل در کنار شعله برداشت کرده و در محیط نوترینت برات استریل می‌بریم و مدت ۶-۸ ساعت در گرمخانه قرار داده تا از یک کدورت نسبی برخوردار شوند.

حال سوسپانسیون میکروبی مورد نظر را از لحاظ کدورت مطابق روش Mac far land مورد بررسی قرار می‌دهیم. با سنجش کدورت محیط تعداد میکروارگانیسم‌ها حدود 10^6 در هر میلی‌لیتر تخمین زده شد.

ب - کشت دادن میکروارگانیسم‌ها روی پلیت: بعد از تهیه سوسپانسیون میکروبی استاندارد با سواب استریل اقدام به کشت هر یک از ۱۵ سوسپانسیون میکروبی بطور جداگانه در روی محیط مولر هیتون می‌نماییم. عمل کشت دادن را بدقت و در سه جهت متفاوت تکرار می‌کنیم تا تمام نقاط پلیت کشت داده شود. حال این پلیت‌ها برای کندن چاهک و ریختن دارو آماده می‌باشند.

ج - تأثیر دادن عصاره‌های تهیه شده روی میکروارگانیسم‌ها: روی هر پلیت به قطر داخلی ۶ میلی‌متر چاهک ایجاد می‌کنیم. از عصاره‌های تهیه شده (با غلظت 10 mg/ml) به وسیله سرنگ استریل وارد چاهک می‌کنیم باید دقت شود تا عصاره‌ها کاملاً خل چاهک مزبور ریخته شوند مقدار عصاره به کار رفته در هر

اسانس گونه‌های مختلف گیاهان انجام شد. قسمتهای گیاهان از جمله برگ و ساقه *Salvia officinalis* و *Caraway (carum carvi)* میوه *officinalis* و گل *cuminum* و گل *Syzygium armaticum* برگهای *thymus vulgaris* را بر سه باکتری گرم منفی (پسودوفلوئورسانس، اشریشیا کلی و سراسیامارسه سنس) و ۴ باکتری مثبت استافیلوکوکوس اورئوس - میکروکوکوس SPP، *SPP* و باسیلوس سوبتیلیس و باکتری مقاوم اسید میکروپلازما فلی (*Micobacterium Pheli*) و یک مخمر ساکارومیزیه (*Saccharomyces serviziae*) حداقل ماده مر (۱۲-۲۵ mg/ml) تعیین نمودند و اعلام کردند که باکتریهای مثبت حساستر از باکتریهای گرم منفی می‌باشد. در مقایسه با بررسی ما شاید به علت کم بودن تعداد باکتری گرم مثبت که باکتری گرم منفی بود. اثرات ضد میکروبی تقریباً یکسان گردید. اما همه گونه‌های گیاهی اثر ضد میکروبی نشان دادند تقریباً با نتایج ما همسوئی دارد.

کاکوتی، مریم گلی و نعناع) بر ۱۵ باکتری بیماریزا و فرصت طلب بیماریزای روده‌ای و عامل مسمومیت غذایی نشان داد هر سه گونه گیاه دارای خاصیت ضد میکروبی می‌باشد. پژوهشگرانی از جمله (Biondi.D. 1993) اثر ضد میکروبی دو گونه از گیاهان تیره نعناع را بر باکتریهای باسیلوس سوبتیلیس، استافیلوکوکوس اورئوس و اشریشیا کلی و پروتئوس و لگاریس بررسی نموده، این گیاهان بر باکتریهای مورد آزمایش اثر ضد میکروبی داشته نتایج پژوهشهای ما نیز با این کارها همسوئی دارد (Biondi. D.) در ادامه پژوهشهای خود نشان داده‌اند که این اثر ضد میکروبی به ترکیبات فنولی موجود در عصاره مربوط می‌باشد.

در پژوهشهایی که ما انجام دادیم بیشترین اثر مربوط به حلالهای متانولی و استنی بوده و عصاره آبی اثر کمتری داشته است. در بررسیهای Ulubelen. A. 1994، از عصاره استنی ریشه، ساقه، برگ و گل *Salvia selarea* مواد ضد میکروبی را انول ترپنئیدها معرفی نموده و جداسازی کردند. مواد مزبور علیه پروتئوس و لگاریس، استافیلوکوکوس اورئوس و کاندیدا آلبیکانس مؤثر بوده است. شاید مواد ضد میکروبی از جمله ترپنئیدها در آب بخوبی حل نمی‌شوند بهمین دلیل در پژوهش ما نتایج اثر ضد میکروبی عصاره آبی کمتر می‌باشد.

بررسیهای ما نشان داد گیاهان مریم گلی و کاکوتی نسبت به گیاه نعناع اثر ضد میکروبی بیشتری دارد. در این زمینه تحقیقات زیادی روی جنس سالویا انجام شده از جمله در مصر Sabri-N-N 1990 و همکارانش اثرات ضد میکروبی و ضد سرطانی قوی در ریشه گونه *Salvia aegratia* گزارش نمودند اثر ضد میکروبی گیاه مزبور را بر پسودوموناس اثر و ژینوزا، استافیلوکوکوس اورئوس، کاندیدا آلبیکانس و باسیلوس سوبتیلیس مشاهده نمودند که با نتایج کار ما مشابه می‌باشد. این پژوهشگران با استفاده از روش کروماتوگرافی ستونی و لایه نازک دو باند رنگی را که وابسته به ترکیبات تانن دار می‌باشند شناسایی نمودند. ساختمان این ترکیبات را بوسیله اسپکتروفتومتر مشخص نموده و بوسیله اشعه X نیز تأیید کردند. اختلاف اثر ضد میکروبی جنسهای مختلف تیره نعناع مربوط به ساختمان شیمیایی آنها می‌باشد. در پژوهش دیگری که توسط Farag-R-1989 و همکارانش در مصر در روی

References

- 1- Biondi- D, cianci- P; Geraci- c, Roberto- G, Piattelli- M (1993). Enterobacteriaceae 4th Edition de la Tourelle, 5 Rue Guynemer 5941. st Mana.
Antimicrobial activity and chemical composition of essential oils from Sicilian aromatic Plants. Flavour and Fragrance journal; 8:6, 331-337.
- 2- Edward. P. R. and Ewing, W. H (1962) Burgess publ co Mineapolis 15 Minnesora Identification of Enterobacteriaceae. 2nd Edition. Burgess publ. Co Mineapolis 15 minnesota.
- 3- Farge - Rs Salem - H; Bader - Azma, Hassanein - DE (1989). Antimicrobial activity of some Egyptian spice essential oil. Journal of food Protection; 52:9, 665-667.
- 4- Kirby W. M. & Bawger, A. W. (1959). Disk antibiotic sensitivity testing to staphylococci: An Analysis of Technique and results, Arch, Intern. Med, 104, 208-16.
- 5- Leon Leminor (1972). Le Diagnostic de laboratoire de
- 6- Pereda-Miranda-R, Hernadez-L, Lopez-R. (1992). A Novell antimicrobial abietane - type diterpene from salvia albocaerulea. planta - Medica; 58: 2, 223-224.
- 7- Sabri - NN. Abou Donia - AA; Ghez - NM; Assed - AM; (1989). Two new rearranged abientane diterpene quinones from salvia aegyptiaca. journal - of - organic chemistry; 59: 17, 4097-4099.
- 8- Ulubelen - A. Topcu - G, Eris - C; Somez - U, Kartal - M; Kurvcu - S; Bozok - Johanson - c (1994). Terpenoids from salvia sclarea phytochemistry; 36: 4, 971-974.
- 9- Vichkanova - SA. Izosimova - SB; Adgina - UV; Shipulina - LD (1979). prospects of a search for antimicrobial substances among quinones of plant orgin. Rastitel nye - Resursy; 15: 2, 167 - 177.

Salmonella paratyphi A	24	18	12
Salmonella paratyphi B	18	16	14
Arctobacter sanguineus	15	13	10
Klebsiella oxytoca	28	26	24
Proteus mirabilis	11	10	9
Staphylococcus aureus	21	19	17
Bacillus cereus	25	22	20
Bacillus subtilis	22	20	18

تأثیر ضدباکتریایی عصاره‌های مختلف مریم‌گلی (*Salvia*) بر باکتریهای بیماریزا
و فرصت طلب بیماریزای رودهای و عوامل مسمومیت غذایی

MICROORGANISMS	METHANOL	ACETON	WATER
<i>Ecoli O¹¹¹B⁴</i>	11.2 ±0	11 ±0	0
<i>Ecoli O²¹⁵B¹⁵</i>	22 ±0.38	18 ±0.2	10 ±0
<i>Ecoli O¹²⁷B⁸</i>	16 ±0.8	14 ±0	12 ±0
<i>Shigella dysentriae</i>	30 ±0	28 ±0	21 ±0
<i>Shigella flexneri</i>	17.2 ±6.58	16 ±0.72	16 ±0.92
<i>Shigella sonnei</i>	16 ±0	26 ±0	12 ±0
<i>Salmonella typhi</i>	23 ±0.58	17 ±0.88	12 ±0.82
<i>Salmonella paratyphi A</i>	24 ±0	19 ±0	12 ±0
<i>Salmonella paratyphi B</i>	18 ±0.5	16 ±0.2	18 ±0
<i>Aerobaeter aerogense</i>	21 ±0.5	15 ±0	10 ±0
<i>Kelebsiella oxytoca</i>	28 ±0.29	20 ±0.2	15 ±0
<i>Proteus mirabilis</i>	0	0	0
<i>Staphylococcus aureus</i>	21 ±0.5	25 ±0.29	12 ±0
<i>Bacillus cereus</i>	23 ±0.06	25 ±0.03	12 ±0
<i>Bacillus subtilis</i>	23 ±0	21 ±0	20 ±0

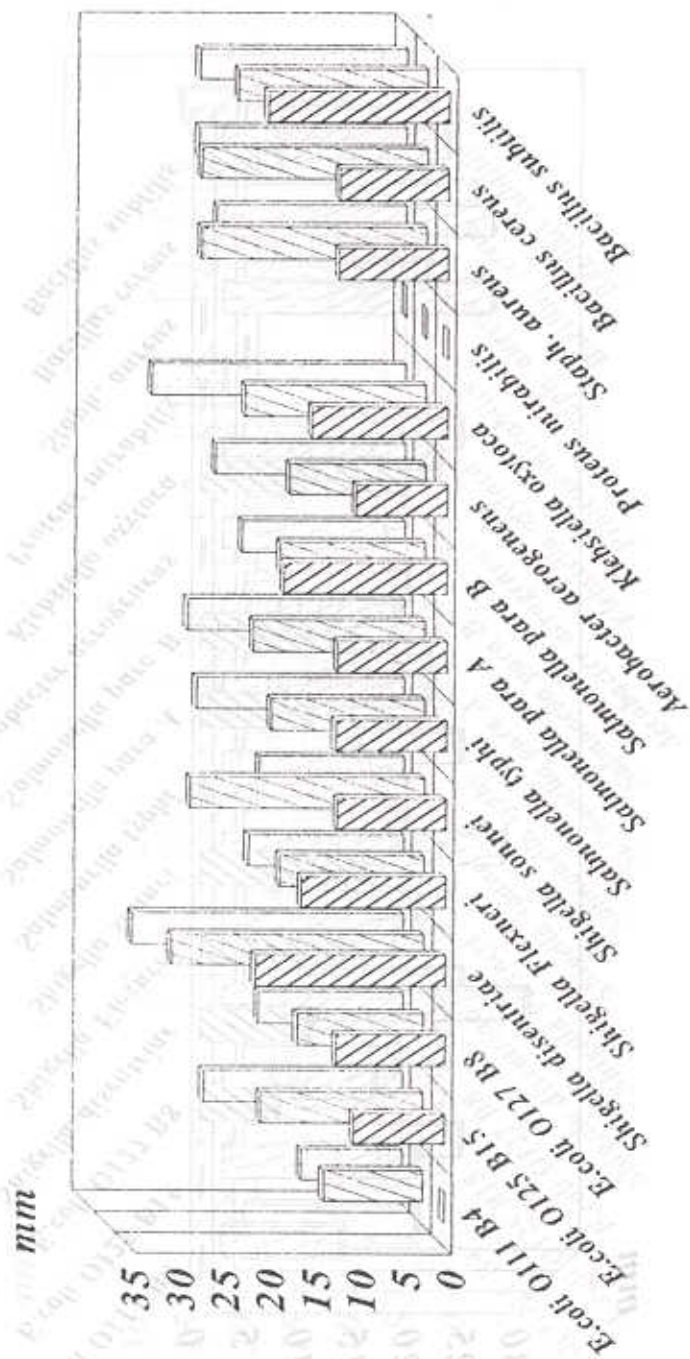
تأثیر ضد باکتریایی عصاره های مختلف نعناع (*Spearmint*) بر باکتری های بیماریزا
و فرصت طلب بیماریزای روده ای و عوامل مسمومیت غذایی

MICROORGANISMS	METHANOL	ACETON	WATER
Ecoli O ¹¹¹ B ⁴	16 ±0	7 ±0.2	0
Ecoli O ²¹⁵ B ¹⁵	20 ±0	8 ±0	0
Ecoli O ¹²⁷ B ⁸	14 ±0.5	8 ±0	7 ±0
Shigella dysentriae	20 ±0	17 ±0	10 ±0
Shigella flexneri	16 ±0.5	19 ±0.2	13 ±0
Shigella sonnei	15 ±0	20 ±0.5	15 ±0
Salmonella typhi	20 ±0	15 ±0	0 ±0
Salmonella paratyphi A	17 ±0	14 ±0	10 ±0.2
Salmonella paratyphi B	15 ±0.62	14 ±0.2	12 ±0
Aerobaeter aerogense	15 ±0.5	12 ±0	0
Kelebsiella oxytoca	20 ±0	18 ±0.5	19 ±0
Proteus mirabilis	0	0	0
Staphylococcus aureus	17 ±0	14 ±0	0
Bacillus cereus	21 ±0.3	20 ±0.3	0 ±0
Bacillus subtilis	12 ±0	16 ±0.1	7 ±0

تأثیر ضدباکتریایی عصاره های مختلف کاکوتی (*Ziziphora*) بر باکتریهای بیماریزا
و فرصت طلب بیماریزای روده ای و عوامل مسمومیت غذایی

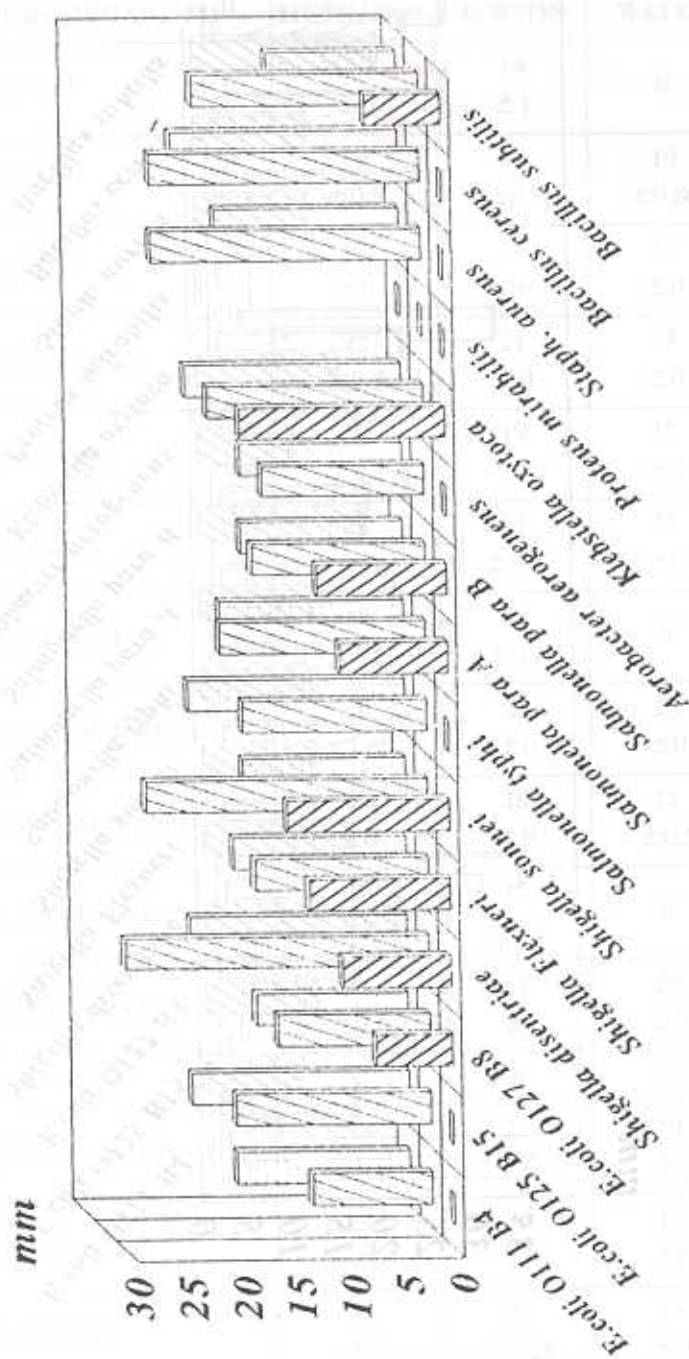
MICROORGANISMS	METHANOL	ACETON	WATER
Ecoli O ¹¹¹ B ⁴	16.2 ±0	14 ±1	0
Ecoli O ²¹⁵ B ¹⁵	19 ±0.5	16 ±0.5	10 ±0.86
Ecoli O ¹²⁷ B ⁸	15 ±0	14 ±0	14 ±0
Shigella dysenteriae	25 ±0.8	21 ±0	15 ±0
Shigella flexneri	19 ±0.5	19 ±0	12 ±0
Shigella sonnei	22 ±0	25 ±0.8	15 ±0
Salmonella typhi	19 ±0	20 ±0.2	0
Salmonella paratyphi A	26 ±1.86	25 ±0	15 ±0
Salmonella paratyphi B	17 ±0	16 ±0	15 ±0.5
Aerobaeter aerogense	20 ±0	15 ±0.5	0
Kelebsiella oxytoca	21 ±0.5	21 ±0	20 ±0
Proteus mirabilis	0	0	0
Staphylococcus aureus	18 ±0.5	22 ±0	10 ±0
Bacillus cereus	22 ±0.69	25 ±0	12 ±0
Bacillus subtilis	20 ±0	21 ±0.28	15 ±0

Effects of Different Salvia Extracts on Enteric Pathogens, Opportunistics and Food Poisoning Bacteria



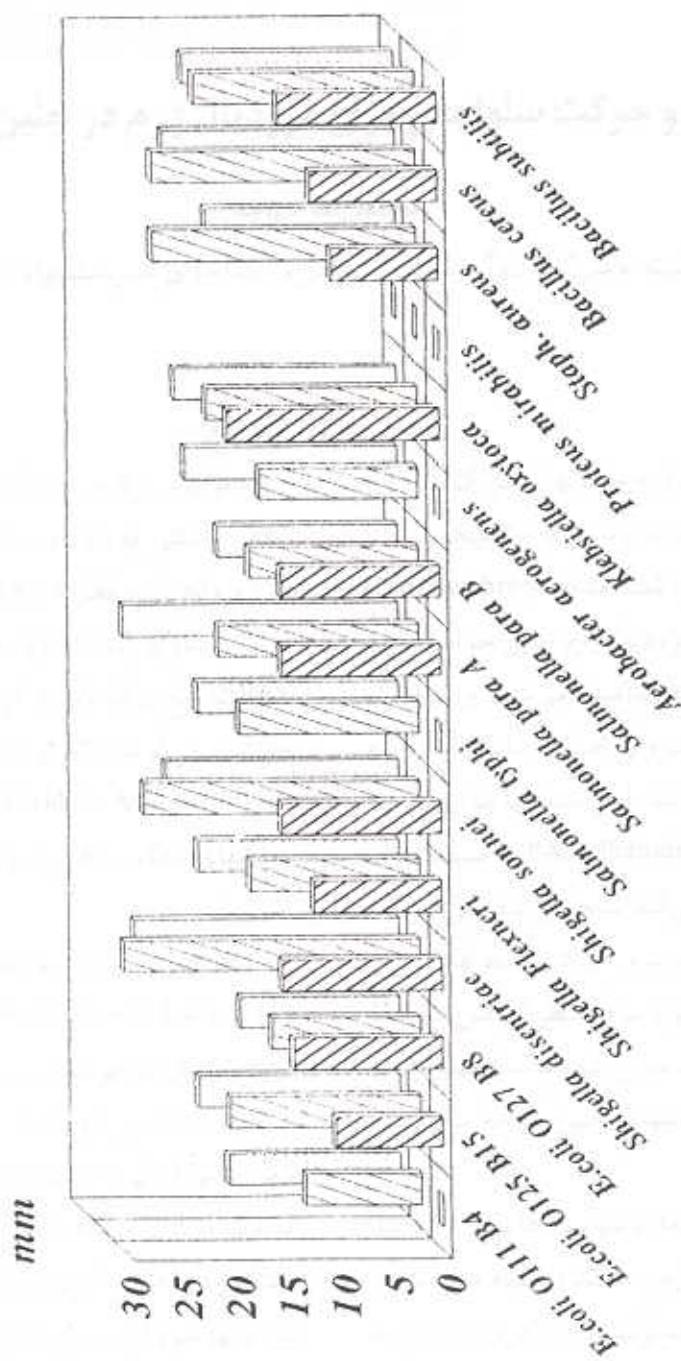
Methanol	11.2	22	16	30	17.2	16	23	24	18	21	28	0	21	23	23
Acetone	11	18	14	28	16	26	17	19	16	15	20	0	25	25	21
Water	0	10	12	21	16	12	12.2	12	18	10	15	0	12	12	20

Effects of Different Spearmint Extracts on Enteric Pathogens, Opportunistics and Food Poisoning Bacteria



Methanol	16	20	14	20	16	15	20	17	15	15	20	0	17	21	12
Aceton	11	18	14	28	16	26	17	19	16	15	20	0	25	25	21
Water	0	0	7	10	13	15	0	10	12	0	19	0	0	0	7

Effects of Different Ziziphora Extracts on Enteric Pathogens, Opportunistics and Food Poisoning Bacteria



Methanol	16.2	19	15	25	19	19	22	19	26	17	20	21	0	18	22	20
Aceton	11	18	14	28	16	16	26	17	19	16	15	20	0	25	25	21
Water	0	10	14	15	12	15	15	0	15	15	0	20	0	10	12	15

شناسائی و حرکت سلولهای پری مرو دیال ژرم در جنین جوجه مرغ

محمدرضا خواجه

دانشگاه شهید باهنر کرمان، گروه زیست شناسی، رنگ آمیزی پاس، سلولهای پری مرو دیال

چکیده:

سلولهای پری مرو دیال ژرم سلولهای بزرگ کروی، تخم مرغی و یا گلابی شکلی به اندازه ۱۰ تا ۲۰ میکرون و تا منشاء گنادها در جوجه مرغ می باشند. مدت ها (Chick embryo) تصور بر آن بود سلولهای پری مرو دیال ژرم جنین جوجه « مرغ از آندودرم که «germinal crescent نامیده می شود و در طول مرحله خط اولیه بوجود می آیند. ولی امروزه ثابت شده که منشاء آنها اپی پلاست می باشد. این سلولها با روش که رنگ آمیزی Periodic Acid Schiff (PAS) ذخیره های گلیکوژن سیتوپلاسم را رنگ می کند تشخیص داده می شوند. در این تحقیق زمان مهاجرت و حرکت سلولهای پری مرو دیال ژرم و تعداد آنها در خون با در نظر گرفتن مرحله تکوینی جنین جوجه مرغ و همچنین تعداد سلولهای پری مرو دیال در ارتباط با تعداد سوماتهای جنین جوجه مرغ تعیین گردید.

نتایج نشان داد، هنگامی که تعداد سوماتها برابر ۳۰ باشد تعداد سلولهای پری مرو دیال ژرم به حد بیشینه می رسد و همچنین در مرحله ۱۶ تکوینی سلولهای پری مرو دیال ژرم به بیشترین میزان دیده می شوند و از این مرحله به بعد این سلولها در گنادها مستقر شده و در مرحله ۱۹ کامل می گردند.

مقدمه:

سلولهای پری مرو دیال (PGCs) سلولهای بزرگ کروی و یا گلابی شکلی به اندازه ۱۰ تا ۲۰ میکرون هستند. هسته آنها گرد و دانه دار به قطر ۸-۱۲ میکرون می باشد.

این سلولها ابتدا حاوی مقدار زیادی زرده هستند ولی به PAS تدریج زرده ناپدید شده توسط ذرات چربی و گلیکوژن جانشین می گردد (۳، ۴، ۱۱) که این نوار با رنگ آمیزی رنگ در (Peridic Acid Schiff) شفاف می گردند (۷). ویژگیهای مذکور یکی از راههای تشخیص PGCs پرندگان است.

قبلاً تصور بر این بود که « PGCs در جنین مرغ از آندودرم (۱) که «germinal crescent نامیده می شود در طول مرحله اولیه خود از مهاجرت این سلولها در راحل بعدی به طرف جلو و عقب ایجاد می شود (۸). ولی امروزه ثابت شده است که منشاء آنها از اپی پلاست و به طور دقیق تر او اختصاصی تر از قسمت مرکزی منطقه شفاف می باشد (۵). با شروع مرحله ۱۰ تکاملی در بعضی از پرندگان تمام سلولهای PGCs در فضای بین رگها نفوذ کرده ولی تا زمانی که قلب شروع به ضربان ننماید وارد جریان خون نمی شوند. این سلولها در خون باقی خواهند ماند و وقتی که جنین ۳ روز (مرحله ۱۸ یا ۱۹) (۸). عمر دارد از مویرگها خارج شده و وارد ناحیه بافت زاینده می شوند (۶ و ۲).