تحقیقی

دارای رتبه علمی – پژوهشی
از کمیسیون نشریات علوم پزشکی کشور

اثـرات ضد باکتریایی عصاره آلوئه ورا (*Alloe vera*) و پولک (*Stachys inflata*) بر باکتری های گرم مثبت و گرم منفی در شرایط برون تن

محسن رجبی
کارشناس ارشد بیوتکنولوژی کشاورزی، گروه گیاهان دارویی، دانشگاه جامع علمی- کاربردی جهادکشاورزی، همدان، ایران

رضا حبیبی پور
دکتری میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، گروه میکروبیولوژی،دانشگاه آزاد اسلامی واحد همدان ،همدان،ایران

سارا وثاقتی عزتپور
دانشجوی کارشناسی ارشد گیاهان دارویی، گروه گیاهان دارویی، دانشگاه آزاد اسلامی، ابهر، ایران

صفورا وثاقتی عزتپور
دانشجوی کارشناسی ارشد گیاهان دارویی، گروه گیاهان دارویی، دانشگاه آزاد اسلامی، ابهر، ایران

نویسنده مسئول: رضا حبیبی پور
پست الکترونیک: Habibipour@iauh.ac.ir
تلفن:۰۹۱۸۳۱۶۹۷۶۰
آدرس: دانشکده علوم پایه، گروه میکروبیولوژی،دانشگاه آزاد اسلامی، همدان،ایران

دریافت:۹۲/۸/۲۰
ویرایش پایانی:۹۲/۱۲/۱٤
پذیرش:۹۲/۱۲/۱۷

چکیده

زمینه و هدف: *اثـرات درمانی ضد میکروبی و ضد ویروسی آلوئه ورا و پولک به اثبات رسیده است. هدف از این تحقیق، بررسی اثرات عصاره آلوئه ورا و پولک بر رشـد برخی باکتری ها جهت جایگزینی داروهای شیمیایی بوده است.*

روش بررسی: *عصاره هر دو گیـاه به روش خیساندن تهیه و غلظت‌های مختلف آنها در محیط کشت مولر هینتون آگار تهیه و با انتشار دیسک آزمایش شد. MIC و MBCنیز به روش رقت متوالی تعیین گردید.*

یافته ها: *غلظت‌های مورد استفاده گیاه آلوئه ورا بر رشد استافیلوکوک طلایی اثر معنی داری نشان داد. MIC وMBC عصاره ژل آلوئه ورا بر باسیلوس سوبتیلیس به ترتیب در غلظت‌های ۲۳۰ و ۴۱۰ میلی گرم بر میلی لیتر بدست آمد که برای هموفیلوس آنفلوآنزا در ۵۰۰ و ۷۱۴ میلی گرم بر میلی لیتر بود. عصاره ژل آلوئه ورا اثری بر روی باسیلوس سرئوس نداشت. عصاره برگ و ژل آلوئه ورا بر هموفلیوس آنفلوانزا و سودوموناس آئروژینوزا اثر مهارکنندگی داشت. عصاره پولک بر هموفلیوس آنفلوانزا اثر مهاری داشت ولی بر سودوموناس آئروژینوزا اثر مهارکنندگی نشان نداد. عصاره پولک بر روی باسیلوس سوبتیلیس اثری نداشت در حالی که بر استافیلوکوک اثر معنی داری نشان داد. عصاره هر دو گیاه بر باکتری کلبسیلا پنومونیه تأثیری نشان نداد.*

نتیجه گیری: *عصاره آلوئه ورا و پولک در شرایط آزمایشگاهی بر این باکتری ها تأثیر گذاشتند. می توان امیداوار بود در آینده این عصاره ها جایگزین مواد شیمیایی برای ساخت مکمل های غذایی جهت کنترل بیماری های انسانی باشند.*

واژه های کلیدی: *آلوئه ورا، پولک، عصاره هیدروالکلی، ضدباکتری*

آدرس مقاله:
رجبی م، حبیبی پور ر، وثاقتی عزتپور س، وثاقتی عزتپور ص " اثرات ضد باکتریایی عصاره آلوئه ورا (*Alloe vera*) و پولک (*Stachys inflata*) بر باکتری های گرم مثبت و گرم منفی در شرایط *برون تن*" مجله علوم آزمایشگاهی، پاییز ۱۳۹۳، دوره هشتم(شماره۳):۱۵-۲۲

مقدمه

گیاهان دارویی غنی از خواص ضد میکروبی قابل توجهی هستند، بنابراین می توان جهت به تأخیر انداختن یا ممانعت از رشد میکروارگانیسم های بیماری زا یا عامل فساد استفاده کرد(۴). خواص درمانی عصاره ها و روغن های اسانسی در مقابل بیماری های میکروبی(۶،۵) و غیرمیکروبی (۸،۷) از زمان های قدیم شناخته شده و مطالعات زیادی روی گونه های مختلف گیاهی و تأثیر اسانس یا عصاره‌های آنها روی میکروارگانیسم ها انجام شده است خواص ضدمیکروبی عصاره¬های گیاهان مختلف نیز مطالعه و گزارش شده است (۱۰،۹). گیاه آلوئه ورا(Alloevera) یا صبر زرد به دلیل خصوصیات درمانی آن و همچنین ۷۵ ترکیب فعال شناسایی شده موجود در ژل آن مورد استفاده قرار گرفته است(۱۱). اثرات باکتریواستاتیک و باکتروسیدال آن روی باکتری¬هایی شامل *پسودوموناس ائروژینوزا، اشریشیاکلی، سالمونلا تیفی، مایکوباکتریوم توبرکلوزیس و کلبسیلا پنومونیه، سراشیا، استرپتوکوک، استاف اورئوس* که به صورت توأم باعث آلودگی زخم می شوند، گزارش شده است (۱۲). برگ های گیاه آلوئه ورا دارای ماده ژل مانندی بنام آلوئس می باشد. ترکیباتی که در ژل آلوئه یافت شده اند از پلی ساکاریدهایی هستند که قادر به کاهش التهاب و ترمیم التهاب می باشند. این ترکیبات همچنین دارای ویژگی ضد باکتریایی نیز می باشند. ترکیبات فنولی و سالیسیلیک اسید آن خاصیت ضدمیکروبی، ضدویروسی و ضد التهابی دارند (۱۳). گیاه پولک(Stachys inflata) نیز در طب سنتی به عنوان بادشکن، مسکن درد های احشایی، سردرد، دردهای عصبی، معرق، اشتها آور، تب بر و در موارد اضطراب به عنوان آرام بخش مورد استفاده قرار می گیرد. در طب سنتی ایران عصاره های حاصل از قسمت های هوایی این گیاه در درمان بیماری های عفونی و روماتوئیدی و بیماری های التهابی به کار رفته است (۱۴). از آنجایی که بیماری های عفونی و میکروبی دسته بزرگی از بیماری ها را تشکیل می دهند و از طرفی شمار جدایه های میکروبی مقاوم به آنتی بیوتیک ها روز به روز بیشتر می شود، لذا نیاز به مواد ضد باکتریایی جدید و کم ضرر هر روز بیشتر نمایان می گردد. از این رو بررسی اثرات ضدمیکروبی گیاهان طبیعی می تواند راه را برای بدست آوردن آنتی بیوتیک‌های جدید هموار سازد (۱۵). در راستای این اهداف، اثرات ضد میکروبی عصاره هیدروالکلی آلوئه ورا و پولک بر روی باکتری‌های *استافیلوکوک اورئوس، کلبسیلا پنومونیه، هموفیلوس آنفلوانزا، سودوموناس-آئروژینوزا، باسیلوس سرئوس، باسیلوس سوبتیلوس* در شرایط آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گرفت.

روش بررسی

در این مطالعه آزمایشگاهی، گیاهان پولک از ارتفاعات اسدآباد و آلوئه ورا از محلات تهیه شد و نام علمی آنها توسط گیاه‌شناس بخش منابع طبیعی مرکز تحقیقات کشاورزی همدان مورد تأیید قرار گرفت. بخش‌های مورد استفاده گیاه پولک (شامل گل و برگ گیاه بعد از گلدهی) در سایه نگهداری شدند و بعد از خشک شدن به کمک آسیاب خرد شده و به صورت پودر درآمدند و سپس عصاره گیری انجام شد (۱۶). گیاه آلوئه ورا نیز به دو صورت برگ و ژل برای عصاره‌گیری استفاده شد. عصاره هیدروالکلی (اتانول ۷۰٪) به روش ماسراسیون تهیه گردید. محلول تهیه شده توسط کاغذ واتمن شماره یک صاف شد و در پلیت پخش گردید تا خشک شوند و پودر خشک حاصل در آزمایش‌ها مورد استفاده قرار گرفت (۱۷). میکروارگانیسم‌های مورد استفاده در این تحقیق از مجموعه قارچ‌ها و باکتری‌های صنعتی ایران (مرکز پژوهش‌های علمی- صنعتی ایران) تهیه شد که شامل‌های باکتری‌های *استافیلوکوک اورئوس* PTCC1337، *کلبسیلا پنومونیه* PTCC1290 *هموفیلوس آنفلوانزا* PTCC1623، *سودوموناس آئروژینوزا* PTCC1599، *باسیلوس سرئوس* PTCC1247، *باسیلوس سوبتیلوس* PTCC1156 بود. آنتی بیوتیک‌های مورد استفاده در این آزمایش شامل جنتامایسین، افلوکساسین، پنی سیلین، اریترومایسین و

سیپروفلوکساسین بود که از شرکت پادتن طب تهران فراهم شد. میکروارگانیسم ها با آنس استریل به داخل لوله‌های حاوی آب مقطر استریل منتقل شد و کدورت آن با استاندارد نیم مک فارلند از طریق روش چشمی سنجیده شد. سپس در محیط‌های مناسب تلقیح صورت گرفت (۱۸-۲۱). برای بررسی فعالیت ضد باکتریایی از روش انتشار دیسک استفاده گردید. در این روش محلول عصاره‌ها در غلظت‌های (۰، ۴۵، ۹۰، ۱۶۶، ۲۳۰، ۲۸۵، ۳۳۳، ۵۰۰، ۶۰۰، ۶۶۶، ۷۱۴، ۷۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) تهیه و دیسک بلانک‌ها در داخل آنها غوطه ور شدند و به مدت ۳۰ دقیقه در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی گراد قرار داده شدند. سپس دیسک‌های حاوی عصاره بر روی محیط‌های کشت در فواصل مساوی قرار داده شدند و به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی گراد قرار گرفتند و در مرحله بعد قطر هاله که نشانه عدم رشد باکتری است اندازه گیری و ثبت گردید (۲۲). برای تعیین پایین‌ترین غلظت مهارکنندگی (MIC) و پایین ترین غلظت کشندگی (MBC) از روش میکرودایلوشن استفاده شد (۲۳). به منظور مقایسه میانگین هاله عدم رشد باکتری‌ها و بررسی معنی‌دار بودن تفاوت میانگین‌های هاله عدم رشد با آنتی بیوتیک‌ها هر آزمایش در ۴ تکرار انجام گردید. برای آنالیز داده‌ها از نرم افزار SAS 9.1 استفاده شد.

یافته ها

عصاره برگ و ژل آلوئه ورا بر روی رشد *هموفلیوس آنفلوانزا* و *سودوموناس آئروژینوزا* اثر مهارکنندگی داشت (به ترتیب ۲۱/۹ و ۱۶/۴میلی‌متر برای *هموفلیوس آنفلوانزا* و ۲۳/۳ و ۲۱/۹ میلی‌متر برای *سودوموناس آئروژینوزا*). همچنین عصاره پولک بر روی رشد *هموفلیوس آنفلوانزا* اثر مهاری نشان داد ولی بر روی *سودوموناس آئروژینوزا* اثر مهارکنندگی نشان نداد. پایین ترین غلظت ضد باکتریایی ژل آلوئه ورا روی *هموفیلوس آنفلوآنزا* در ۵۰۰ میلی گرم بدست آمد (جدول ۱). پایین ترین غلظت آنتی باکتریال قسمت سبز برگ آلوئه ورا نیز در ۱۶۶ میلی‌گرم حاصل شد. در بین آنتی بیوتیک‌ها، آفلوکساسین و سیپروفلوکساسین روی *هموفیلوس آنفلوانزا* تأثیر داشت (به ترتیب ۱۶/۴ و ۲۶/۴ میلی‌متر). مقدار MIC برای ژل آلوئه ورا و قسمت سبز آن برای *سودوموناس آئروژینوزا* به ترتیب در ۵۰۰ و ۲۸۵ و MBC ژل آلوئه ورا در ۶۶۶ میلی گرم در میلی لیتر بود. آنتی بیوتیک‌های آفلوکساسین (۲۰/۴ میلی متر) و جنتامایسین (۲۶/۴ میلی متر) نیز روی باکتری *سودوموناس آئروژینوزا* تأثیر گذار بودند. عصاره گیاه پولک در غلظت پایین ۴۵ میلی گرم بر میلی لیتر با ایجاد قطر هاله عدم رشد ۱۰/۴ میلی متری بر روی رشد *باسیلوس سرئوس* اثر مهاری نشان داد. عصاره برگ آلوئه ورا نیز در غلظت ۱۶۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر (۸/۴ میلی‌متر) اثر گذار بود. لازم به ذکر است که عصاره ژل آلوئه ورا در عمل هیچ اثری بر روی باکتری *باسیلوس سرئوس* نشان نداد. تمامی آنتی بیوتیک‌های استفاده شده روی باکتری *باسیلوس سرئوس* مؤثر بودند. بالاترین اثر مربوط به جنتامایسین (۳۲/۴ میلی‌متر) و کمترین اثر مربوط به پنی سیلین (۱۰/۴ میلی‌متر) بود. پایین‌ترین غلظت آنتی باکتریال پولک در ۴۵ میلی‌گرم بود، که با افزایش غلظت عصاره، اثر مهاری افزایش یافت ولی این گیاه در غلظت تعیین شده، اثرکشندگی نداشت. پایین‌ترین غلظت آنتی باکتریال ژل آلوئه ورا در ۵۰۰ میلی‌گرم بود که با افزایش غلظت عصاره، اثر مهاری افزایش یافت. پایین ترین غلظت آنتی باکتریال قسمت سبز برگ آلوئه ورا در ۱۶۶ میلی گرم بود. شایان ذکر است که عصاره پولک و برگ آلوئه ورا اثر مهار کنندگی بر روی *باسیلوس سوبتیلیس* نداشت. بر اساس نتایج، کمترین غلظت بازدارندگی رشد (MIC) و کمترین غلظت کشندگی (MBC) عصاره ژل آلوئه ورا بر روی باکتری *باسیلوس سوبتیلیس* به ترتیب در غلظت های ۲۳۰ و ۴۱۰ میلی گرم بر میلی لیتر با استفاده از روش میکرو دایلوشن بدست آمد. آنتی بیوتیک‌های جنتامایسین (۲۰/۴ میلی‌متر)، آفلوکساسین (۱۸/۴ میلی‌متر) و سیپروفلوکساسین (۳۲/۴ میلی‌متر) روی باکتری *باسیلوس سوبتیلیس* موثر بودند و پنی سیلین و اریترومایسین اثری روی این باکتری نداشتند. عصاره ژل و برگ آلوئه ورا در تمامی غلظت‌ها

اثری بر باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* نداشته است. پایین ترین غلظت آنتی باکتریال پولک روی باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* در ۴۵ میلی گرم بود (۱/۹۶±۷/۳ میلی متر). آفلوکساسین هاله عدم رشد ۱۴/۴ میلی متری ایجاد کرد در حالی که عصاره پولک در غلظت ۳۳۳ (۱±۱۷/۹ میلی متر) و ۷۵۰ میلی گرم در میلی لیتر (۱/۱۵±۲۱/۴ میلی متر) توانست هاله مهاری بیشتری را نشان دهد (جدول ۱). عصاره گیاه پولک در تمامی غلظت‌ها هیچ اثری بر باکتری *کلبسیلا پنومونیه* نداشت. همچنین عصاره ژل و برگ آلوئه ورا در تمامی غلظت‌ها روی باکتری *کلبسیلا پنومونیه* تأثیری نشان ندادند، ولی آفلوکساسین و سیپروفلوکساسین رشد این باکتری را مهار کردند(به ترتیب ۱۸/۴ و ۱۶/۴ میلی متر) (جدول۲).

جدول ۱- میانگین قطر هاله عدم رشد باکتری براساس غلظت های مورد استفاده عصاره هیدروالکلی آلوئه ورا و پولک

عصاره	باکتری	غلظت (میلی گرم در میلی لیتر)											
		۰	٤٥	۹۰	١٦٦	۲۳۰	۲۸۵	۳۳۳	٥۰۰	٦۰۰	٦٦٦	۷۱٤	۷٥۰
پولک	*هموفیلوس آنفلوانزا*	۰/۰۰	٤/۲	۷/۳	۹/۹	۱۰/٤	۱۳/۹	۱۳۱/۹	۱٤/۹	۱٥/٤	۱۷/٤	۱۹/٤	۱۹/٤
	سودوموناس آئروژینوزا	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰
	استافیلوکوک اورئوس	۲/۱	۷۱/۳	۷/۳	۱٥۱/٤	۱٦/٤	۱٦/۹	۱۷/۹	۱۷/۹	۱۸/٤	۱۹/۹	۲۰/٤	۲۱/٤
	کلبسیلا پنومونیه	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰
	باسیلوس سوبتیلیس	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰
	باسیلوس سرئوس	۰/۰۰	۲/٦	۱۰/٤	۱٤/۹	۱٦/۹	۱۸/۹	۲۱/٤	۲۲/٤	۲۳/٤	۲٥/۹	۲٦/۹	۲٦/۹
برگ آلوئه ورا	*هموفیلوس آنفلوانزا*	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	٦/۳	۱۲/۹	۱۳/۹	۱٤/٤	۱٥/٤	۱۷/٤	۲۰/٤	۲۱/٤	۲۱/۹
	سودوموناس آئروژینوزا	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۸/٤	۸/۹	۱۷/٤	۲۱/٤	۱/۲۲/٤	۲۲/۹	۲۳/٤
	استافیلوکوک اورئوس	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰
	کلبسیلا پنومونیه	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰
	باسیلوس سوبتیلیس	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	٤/۲	٤/۲	۸/۹	۹/۹	۱۰/٤	۱۱/۹	۱۱/۹	۱۱/۹
	باسیلوس سرئوس	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	٦/۳	٦/۸	۹/٤	۹/۹	۱۳/٤	۱٥/۹	۱٦/۹	۱٦/۹	۱٦/۹
ژل آلوئه ورا	*هموفیلوس آنفلوانزا*	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۱۳/٤	۱۳/۹	۱٦/٤	۱٦/٤	۱٦/٤
	سودوموناس آئروژینوزا	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۱۸/۹	۱۹/٤	۲۱/۹	۲۱/۹	۲۱/۹
	استافیلوکوک اورئوس	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰
	کلبسیلا پنومونیه	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰
	باسیلوس سوبتیلیس	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰
	باسیلوس سرئوس	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰

جدول ۲- میانگین قطر هاله عدم رشد باکتری های مورد مطالعه در برابر آنتی بیوتیک ها (میلی متر)

باکتری	آنتی بیوتیک				
	P	GM	CP	OF	Er
هموفیلوس آنفلوانزا	-	-	۲٦/٤	۱٦/٤	-
سودوموناس آئروژینوزا	-	۲٦/٤	۳٦/٤	۲۰/٤	-
استافیلوکوک اورئوس	-	-	۲۲/٤	۱٤/٤	-
کلبسیلا پنومونیه	-	-	۱٦/٤	۱۸/٤	-
باسیلوس سوبتیلیس	-	۲۰/٤	۳۲/٤	۱۸/٤	-
باسیلوس سرئوس	۱۰/٤	۳۲/٤	۳۰/٤	۲۸/٤	۳۰/٤

P: Penicillin G(10µg), GM: Gentamicin (10µg), CP: Ciprofloxacin(5µg) ,OF: Ofloxacin (5µg)

بحث

تا چند دهه گذشته آنچه که به عنوان دارو مورد استفاده قرار می‌گرفت، از منابع طبیعی و به طور عمده از گیاهان بدست می آمد و از آنجا که مصرف روز افزون داروهای شیمیایی روز به روز مشکلات حادتری از قبیل پدیده خود ایمنی بر اثر مصرف مداوم و بی رویه و عوارض جانبی که گاهی از خود بیماری نیز خطرناکتر هستند، را بوجود می‌آورند، استفاده از عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهانی که فعالیت ضد باکتریایی از خود نشان می‌دادند، در سال‌های اخیر مورد توجه قرار گرفته است (۲۴، ۲۵، ۲۶). اثرات میکروب کشی عصاره گیاهان آلوئه ورا و پولک در مورد باکتری‌های *هموفیلوس* و *سودوموناس* از آنتی بیوتیک افلوکساسین بیشتر بود. در این مطالعه مشخص شد که حساسیت باکتری‌های گرم مثبت *استافیلوکوک اورئوس* و *باسیلوس سرئوس* نسبت به عصاره گیاه پولک از باکتری‌های گرم منفی *سودوموناس* و *کلبسیلا* بیشتر است. نتایج مشابهی در تحقیقات Ugur و همکاران بدست آمده که بیانگر تاثیر اسانس گیاه *S. amanica* بر روی همه باکتری های گرم مثبت به جز استافیلوکوک اپرمیدیس *MU 38* است، ولی تنها دو باکتری گرم منفی *Cryseomonas luteola MU 65* و *Stenotrophomonas maltophilia MU 64* را مهار کردند(۲۷). در حالی که در مورد عصاره آلوئه ورا باکتری‌های گرم منفی *هموفیلوس*، *سودوموناس* حساسیت بیشتری نسبت به باکتری گرم مثبت *استافیلوکوک* نشان دادند. مقاومت بالاتر در باکتری‌های گرم منفی می‌تواند به حضور غشای فسفولیپیدی خارجی تقریبا غیر قابل نفوذ به ترکیبات چربی دوست نسبت داده شود. فقدان این غشاء در باکتری‌های گرم مثبت به مواد متشکله اسانس و عصاره‌ها اجازه می‌دهد که به طور مستقیم با غشای دو لایه فسفولیپیدی سلول در تماس باشند. این امر باعث افزایش نفوذپذیری یونی و نشت ترکیبات حیاتی درون سلولی و آسیب رسیدن به سیستم‌های آنزیمی باکتری می‌شود. همچنین وجود ترکیبات آلوئین(*Aloin*) و آلوئه امودین (*Aloe-emodin*) در آلوئه ورا که ساختار پلی فنولیک دارد و می تواند سنتز پروتئین توسط سلول های باکتری را مهار کند نیز می تواند توجیهی بر خصوصیات ضد میکربی این گیاه باشد. برخی از ترکیبات مانند آنتراکوئینون ها (*Anthraquinones*) به عنوان ماده مؤثره ژل آلوئه ورا مستقیماً دارای فعالیت ضد باکتری بوده در حالی که برخی دیگر از قبیل آسمانان (*Acemannan*) به طور غیر مستقیم از طریق تحریک فاگوسیتوزی در فعالیت ضد باکتری نقش دارند (۲۹،۲۸). طالعی و همکاران در بررسی عصاره و اسانس آویشن برگ باریک (تیره نعناع) بر روی *سودوموناس آئروژینوزا* نشان دادند که عصاره متانولی ۷۰ درصد آویشن برگ باریک در غلظت ۱۳ میلی‌گرم و اسانس آویشن برگ باریک در غلظت ۱۸۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر این باکتری را مهار نمودند، که نتایج فوق با نتایج حاصله از آزمایش حاضر مشابهت دارد. همچنین چیت ساز و همکاران نشان دادند عصاره متانولی *Stachys schtschegleevii* اثرات بازدارندگی بر رشد باکتری های *استافیلوکوک اورئوس* دارد (۳۰). مطالعات محققان دیگر نیز مهار این باکتری توسط گیاهان دارویی را به اثبات رسانده است (۳۱،۳۲). *Arunkumar* و *Muthuselvam* نیز اثر مهاری عصاره اتانولی و استونی ژل آلوئه ورا را روی باکتری *سودوموناس آئروژینوزا* و *استافیلوکوکوس اورئوس* گزارش کردند (۳۳). بالاترین اثر بر روی *هموفیلوس آنفلوانزا* توسط قسمت سبز برگ آلوئه ورا بود. ژل آلوئه ورا اثر یکسانی با آنتی بیوتیک آفلوکساسین داشتند و قسمت سبز برگ آلوئه ورا و پولک اثرات بالاتری از آنتی بیوتیک آفلوکساسین داشتند و می‌توانند جایگزین مناسبی به جای آنها باشند. در مقایسه با گیاهان آزمایش شده در این تحقیق Roussis و همکاران نیز اثر اسانس‌های گیاهان مختلف را بر روی میکروارگانیسم‌های مختلف از جمله *هموفیلوس آنفلوانزا* را به روش آزمایشگاهی مورد بررسی قرار دادند و نتایج حاکی از متغیر بودن تأثیر بر میکروارگانیسم های مختلف به نوع و اندازه ملکول‌های مؤثر و قدرت نفوذپذیری آنها به

داخل میکروارگانیسم می باشد (۳۴). در مطالعه مصحفی و همکاران که بر روی مریم گلی ایرانی و مریم گلی آذربایجانی (از تیره نعناع: مشابه پولک) انجام شد، به بررسی اثر ضد میکروبی عصاره‌ها بر روی شش سوش میکروبی گرم مثبت و گرم منفی که شامل *اشریشیاکلی*، *استافیلوکوکوس ارئوس*، *استافیلوکوکوس اپیدرمیس*، *سودوموناس آئروژینوزا* و *باسیلوس سوبتیلیس* بود، پرداختند که در این مطالعه عصاره آبی مریم گلی ایرانی و عصاره متانولی آن، تمام باکتری های فوق را از بین برد، ولی عصاره آبی و متانولی مریم گلی آذربایجانی بر روی باکتری *کلبسیلاپنومونیه* و *سودوموناس آئروژینوزا* تأثیری نداشتند (۳۵). نتایج این تحقیق صحتی بر مقاوم بودن باکتری *کلبسیلا پنومونیه* نسبت به باکتری *استافیلوکوکوس ارئوس* در مواجه با برخی عصاره های گیاهی می‌باشد. Agarry و همکاران نیز اثر عصاره ژل و برگ بر روی *سودوموناس آئروژینوزا* را به روش آزمایشگاهی مورد بررسی قرار دادند و نتایج حاکی از تاثیر عصاره برگ بر مهار رشد *سودوموناس آئروژینوزا* داشت در حالی که عصاره ژل اثری نداشت. هر دو عصاره ژل و برگ روی *استافیلوکوکوس اورئوس* تاثیر داشتند به طوری که اثر مهاری ژل بیشتر از برگ بود (۳۶). نتایج این تحقیق مشابه نتایج عصاره برگ آلوئه ورا در تحقیق حاضر بود. البته نتایج Agarry و همکاران در خصوص اثر بر *استافیلوکوکوس اورئوس* با نتایج تحقیق حاضر در تضاد می باشد که ممکن است به دلیل نوع حلال در عصاره گیری و همچنین سویه باکتری مورد آزمایش باشد. نجات زاده براندوزی اثر عصاره های آبی، اتانولی و استونی آلوئه ورا را بر روی چندین باکتری مورد بررسی قرار داد و اثرات مؤثر عصاره های اتانولی و استونی را بر روی باکتری های *استافیلوکوکوس اورئوس*، *استافیلوکوکوس پیوژنز* و *سودوموناس آئروژینوزا* را مشاهده کرد که نتایج حاصله با نتایج پژوهش انجام شده مطابقت داشت (۳۷). در تحقیق دیگری، Thiruppathi و همکاران اثرات ضد میکروبی عصاره آلوئه ورا بر روی باکتری های *کلبسیلا پنومونیه*، *سودوموناس آئروژینوزا*، و *استافیلوکوکوس اورئوس* را مورد بررسی قرار دادند که نتایج حاصله اثرات مهاری عصاره اتانولی و اتیل استات بر روی هر سه باکتری را نشان داد (۳۸).

نتیجه گیری

با توجه به مقاوم بودن باکتری های گرم منفی تأثیر عصاره هر دو گیاه، روی باکتری‌های *هموفیلوس آنفلوانزا* و *سودوموناس آئروژینوزا*، خوب بوده است. همچنین این تحقیق بر اهمیت رابطه بین مواد طبیعی گیاهی (عصاره گیاهی) و فعالیت ضدباکتری این مواد تأکید دارد. از آنجا که اثرات ضدباکتریایی عصاره‌های آلوئه ورا و پولک در تحقیقات مختلف و تحقیق حاضر بر روی گونه‌های متعددی از باکتری‌ها به اثبات رسیده است، استفاده از آنها در درمان عفونت‌های ایجاد شده توسط باکتری‌های مقاوم، پس انجام مطالعات بالینی می تواند توصیه گردد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله از مسئول آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشگاه آزاد واحد همدان سرکار خانم لیلا مرادی حقگو به خاطر همکاری هایشان، خانم عاطفه محبی (کارشناس ارشد میکروبیولوژی) و خانم مرجان پیرمحمدیان (کارشناس گیاهان دارویی) در راهنمایی و اجرای این تحقیق کمال تشکر و قدردانی را دارند.

References

1.Zaman M. *Medicinal Plants, cultivation and harvesting methods*. Tehran Ghoghnus Press. 1994; 3-5.[Persian]

2.Shafizadeh F. *Medicinal Plants of Lorestan and Khorramabad*. Lorestan University of Medical Sciences Press. 2006; 85.[Persian]

3.Zargari A. *Medicinal plants*. Tehran: University Publications of Tehran. 1990; 4: 28-38. [Persian]

4.Weinstine RA. C*ontrolling antimicrobial resistance in hospitals: Infection control and use of antibiotics*. Emerg Infect Dis. 2001; 7(2):188-192.

5.Arrieta J, Reyes B, Calzada F, Cedillo-Rivera R, Navarrete, A. *Amoebicidal and giardicidal compounds from the leaves of Zanthoxylum liebmannianum*. Fitoterapia. 2001; 72(3): 295-297.

6.Ciani M, Menghini L, Mariani F, Pagiotti R, Menghini A, Fatichenti F. *Antimicrobial properties of essential oil of Satureja montana L. on pathogenic and spoilage yeasts*. Biotechnology Letters. 2000; 22(12): 1007-1010.

7.Ngo BE, Schmutz M, Meyer C, Rakotonirina A, Bopelet M., Portet, C, et al. *Anticonvulsant properties of the methanolic extract of Cyperus articulatus (Cyperaceae)*. J Ethnopharmacol. 2001; 76(2): 145-150.

8.Vikrant V, Grover JK, Tandon N, Rathi SS, Gupta N. *Treatment with extracts of Momordica charantia and Eugenia jambolana prevents hyperglycemia and hyperinsulinemia in fructose fed rats*. J Ethnopharmacol. 2001; 76(2): 139-143.

9.Khan MR, Kihara M, Omoloso AD. *Antimicrobial activity of Harpulliua ramiflora*. Fitoterapia. 2001a; 72(3): 298-300.

10.Khan M. MR, Kihara M, Omoloso AD. *Antimicrobial activity of Picrasma javanica*. Fitoterapia. 2001b; 72(4): 406-408.

11.Hamman JH. Composition and applications of Aloe vera leaf gel.Molecules. 2008; 13:1599–1616.

12.Ali NA, Julich WD, Kusnick C, Lindequist U. *Screening of Yemeni Medicinal plants for antibacterial and cytogenic activities*. J Ethnopharmacal. 2001; 74(2): 173-9.

13.Mousavi F. *Aloe vera*: *plant with thousands of treatment (Cultivation, treatment and harvesting and its pharmacological properties)*. Nosuh Press. 2010; 22-35. [Persian]

14.Ghahraman A. *Color Flora of Iran*. Tehran: Research Institute of Forests and Rangelands. 2005; 122-125.[Persian]

15.Talei G, Meshkatosadat M, Delfan B. Antibacterial activity of fruit, leaves extracts of *Artemisia Persica* Boiss , *Rhus Coriaria*, *Ephedra Intermedia* and *Daphne Mucronata* Royle of Lorestan. Yafteh. 2004; 5(3):19-24.[Persian]

16.Samsam Shariat H. *Extraction and the isolation of active ingredients from medicinal plants and methods to identify and evaluate them*. Publications of the Institute of Isfehan Mashal. 2002; 14-16.[Persian]

17.Ghassemi Dehkordi N. *Iranian Herbal Pharmacopoeia*. Publications of Ministry of Health and Medical Education. Department of Food and Drugs. 2002; 8-13.[Persian]

18.Naderi nasab M, Rashed T, Nazem M. *Bacteriology of Laboratory*. Publications of Astan Quds Razavi. 2003; 24-30.[Persian]

19.Nascimento GFL, Locatell J, Freitas CP, Silva LG. *Antibacterial activity of plant extract and phytochemical on antibiotic resistant bacteria*. Braz J Microbiol. 2000; 31(4): 347-51.

20.Sadeghi M, Musa Khani *N*. *General veterinary bacteriology - Specific-Diseases.* Bu-Ali Sina University Press. 2007; 11-15.[Persian]

21.Habibi Pour R, Bayat S. *GeneralMicrobiology and antimicrobial factors.*Porshokooh Press. 2009; 25-35.[Persian]

22.Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. *Medical Microbiology*. Elsevier Health Sciences press. 2009; 947.

23.Rasooli I, Mirmostafa SA. *Bacterial susceptibility and chemical composition of essential oils from ThtmusKotschyanus and Thymus persicus*. J Agric Food chem. 2003; 51(8): 2200 - 2205.

24.Naghdi Badi H. MalekizadehTafti. *A review of Thyme*, J Medicinal Plants. 2003; 2(7): 1.[Persian]

25.Naseri M. *Need to revive traditional Iranian medicine*. J Darmangar. 2003; 2: 2-7.[Persian]

26.Chitsaz M, Barton M, Bazargan M, Kamali Nejad, M. *Essential oil components and antibacterial effect of Ziziphora clinopodioides.* International journal of antimicrobial agents. 2007; 29(Suppl 2): S512-S513.

27.Ugur A, Sarac N, Varol O. *Antimicrobial activities of the essential oils of endemic Stachys rupestris and Stachys amanica against multi-resistant bacteria*. Indian J Pharmacol. 2013; 45: 201-202.

28.Somboonwong J, Thanamittramanee S, Jariyapongskul A, Patumraj S. *Therapeutic effects of Aloe vera on cutaneous microcirculation and wound healing in second degree burn model in rats*. J Med Assoc Thai. 2000; 83: 417-425.

29.Korkina L, Suprun M, Petrova A, Mikhal'chik E, Luci A, De Luca C. *The protective and healing effects of a natural antioxidant formulation based on ubiquinol and Aloe vera against dextran sulfate-induced ulcerative coloitis in rats*. Biofactors. 2003; 18: 255-264.

30.Habbal OA, AL-Jabri AA, EL-Hag A, Al-Mahrooqi ZH, Al-Hashmi NA. *In-vitro antimicrobial activity of study on the oman henna*. Saudi medical Journal. 2005; 26(1): 69-72.

31.Tabatabai Nejad S. *Antimicrobial Effect of Zataria Multiflora on Psuedomonasa uruginoza.* the 3rd Congress of Medical Plant. Shahed University, Tehran (2007).

32.Saeedi M, Morteza-Semnani K, Mahdavi MR, Rahimi F. *Antimicrobial studies on extracts of four species of Stachys*. Indian J Pharm Sci. 2008; 70(3): 403–406.

33.Arunkumar S, Muthuselvam M. *Analysis of Phytochemical Constituents and Antimicrobial Activities of Aloe vera L. Against Clinical Pathoges.* World Journal of Agricultural Sciences. 2009. 5(5): 572-576.

34.Roussis V, Chinou I, Perdetzog L, Loukis A. *Identification and bacteriostatic activity of the essential oil of Lamiumgraganicuml, Spp, LaevigatumArcangeli*. J Essential Oil Research. 1996; 8: 291-293.

35.Mos-hafi MH, Mehrabani M, Zolhasb H. *Antibacterial activity studies of Salvia mirzayanii and Salvia atropatana against six standard grams positive and gram negative bacteria*. J Kerman University of Medical Sciences. 2004; 11(2): 109-118. [Persian]

36.Agarry OO, Olaleye MT,Bello-Michael CO. *Comparative antimicrobial activities of Aloe vera gel andleaf*. African Journal of Biotechnology. 2005. 4(12): 1413-1414.

37.Nejatzadeh-Barandozi F. *Antibacterial activities and antioxidant capacity of Aloe vera*. Organic and Medicinal Chemistry Letters. 2013. 3(1): 1-8.

38.Thiruppathi S, Ramasubramanian V, Sivakumar T Thirumalaiarasu V. *Antimicrobial activity of Aloe vera (L.) Burm. f. against pathogenic Microorganisms*. J. Bio Sci Res. 2010; 1(4): 251-258.

Antibacterial Effects of Extract of *Alloe Vera* and *Stachys Inflata* on Gram Positive and Negative Bacteria in *In Vitro*

Rajabi, M. (MSc)
MSc of Agricultural Biotechnology, Department of Medicinal Plants, Applied-Scientific University of Jihad-Agriculture, Hamedan, Iran

Habibipour, R. (PhD)
PhD of Mycology, Department of Microbiology, School of Basic Sciences, Islamic Azad University, Hamedan Branch, Hamedan, Iran

Vesaghati Ezatpour, S. (BSc)
MSc Student of Medicinal Plants, Department of Medicinal Plants, Islamic Azad University, Abhar-Zanjan Branch, Zanjan, Iran

Vesaghati Ezatpour, S. (BSc)
MSc Student of Medicinal Plants, Department of Medicinal Plants, Islamic Azad University, Abhar-Zanjan Branch, Zanjan, Iran

Corresponding Author:
Habibipour, R

Email: mjavadra@yahoo.com

Received: 11 Nov 2013
Revised: 5 Mar 2014
Accepted: 8 Mar 2014

Abstract

Background and objective: Antimicrobial and antiviral effects of *Alloe Vera* and *Stachys inflata* have been proved. We aimed to investigate the effects of extract of *Alloe Vera and Stachys inflate* on the growth of some bacteria to take the place of chemical drugs.

Material and Methods: the extracts of both plants were prepared by maceration method; different concentrations were prepared using Mueller Hinton agar medium and tested by Disc diffusion. Furthermore, minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) were determined by the Microdilution method.

Results: The effect of *Alloe Vera* extract was significant *on Staphylococcus aureus*. MIC and MBC of *Aloe Vera* extract on *Bacillus subtilis* were obtained in 230 and 410 mg/ml, respectively, which were 500 and 714 mg/ml for *Haemophilus influenza*. The extract of gel of *Alloe Vera* had no effect on *Bacillus subtilis*. The extract of leaf and gel of *Alloe Vera* had an inhibitory effect on *Haemophilus influenza* and *Pseudomonads aeraginosa*. The extract of *Stachys inflata* had an inhibitory effect on *Haemophilus influenza*, but it did not have any on *Pseudomonads aeraginosa*. The Extract of *Stachys inflata* had no effect on *Bacillus subtilis,* while showing significant effect on *Staphylococcus.* Among antibiotics, *Ofloxacin* had an effect on *Haemophilus influenza*. The extract of both plants did not show any effect on *Klebsiella pneumonia.*

Conclusion: Given the effect of *Alloe Vera* and *Stachys inflata* in laboratory conditions, we hope that these extracts will be used instead of chemical substances for making nutritional supplements to control human diseases.

Key words: *Alloe Vera*, Antibacterial, *Stachys Inflata*, Extract

This paper should be cited as: Rajabi, M, Habibipour, R, Vesaghati Ezatpour, S, Vesaghati Ezatpour, S. [Antibacterial Effects of Extract of Alloe Vera and Stachys Inflata on Gram Positive and Negative Bacteria in In Vitro]. MLJ. 2014; 8(3):15-22 [Article in Persian]