

بررسی اثر ضد باکتریایی عصاره متانولی گیاه اسپند در شرایط آزمایشگاهی بر روی تعدادی از باکتری‌های مهم بیماری‌زای منتقله از مواد غذایی

طیبه زینلی^۱، محمد محسن زاده^{۲*}، رویا رضائیان دلونی^۳، رویا نبی‌پور^۴

۱- متخصص بهداشت مواد غذایی، فارغ التحصیل دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

۲- دانشیار گروه بهداشت مواد غذایی و آبزیان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

۳- استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران

۴- دانشجوی دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گیلان، رشت، ایران

* نویسنده مسئول مکاتبات: mohsenza@um.ac.ir

(دریافت مقاله: ۹۳/۹/۱۲ پذیرش نهایی: ۹۴/۱۱/۱۵)

چکیده

باکتری‌های با منشأ غذایی در ایجاد عفونت‌ها یا مسمومیت‌های غذایی در انسان نقش دارند. با افزایش روزافزون تعداد سویه‌های باکتریایی مقاوم به آنتی‌بیوتیک تلاش فراوانی جهت استفاده از خواص ضد میکروبی گیاهان انجام می‌گیرد. گیاه اسپند از جمله گیاهان دارویی در طب سنتی ایران بوده که از گذشته از آن به‌عنوان ضد عفونی کننده استفاده می‌گردید. در میان باکتری‌های بیماری‌زای غذایی، *اشریشیا کلی O157:H7*، *سالمونلا تیفی موریوم* و *لیستریا مونوسیتوژنز* جزو باکتری‌های خطرناک و شناخته شده می‌باشند. این تحقیق با هدف تعیین اثر ضد میکروبی عصاره متانولی گیاه اسپند بر رشد این باکتری‌ها در شرایط آزمایشگاهی انجام شد. تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و حداقل غلظت باکتری‌کشی (MBC) عصاره با استفاده از روش رقیق‌سازی در محیط مولر هیتون براث تعیین گردید. طبق نتایج مطالعه، MIC عصاره متانولی گیاه اسپند برای باکتری‌های *اشریشیا کلی O157:H7* و *سالمونلا تیفی موریوم* ۱/۵۶ میلی‌گرم در میلی‌لیتر و برای باکتری *لیستریا مونوسیتوژنز* ۰/۷۸ میلی‌گرم در میلی‌لیتر تعیین شد. هم‌چنین، MBC عصاره متانولی گیاه اسپند برای باکتری‌های مذکور مشابه MIC آن‌ها بود. با توجه به نتایج به‌دست آمده، پیشنهاد می‌شود از عصاره گیاه اسپند به‌عنوان جزئی از فرمولاسیون محلول‌های ضد عفونی کننده مواد غذایی استفاده گردد.

واژه‌های کلیدی: عصاره متانولی اسپند، *اشریشیا کلی*، *سالمونلا تیفی موریوم*، *لیستریا مونوسیتوژنز*

مقدمه

با پیشرفت علم داروسازی و جایگزینی داروهای ساختنی و آنتی‌بیوتیک‌های مختلف با داروهای دارای منشا گیاهی، به تدریج اثرات مضر داروهای ساختنی ظاهر شده است. از دهه ۱۹۵۰ باکتری‌های بیماری‌زای متعددی به آنتی‌بیوتیک‌ها مقاومت نشان دادند که این مقاومت هم‌چنان در حال گسترش است. بنابراین امروزه تلاش بر این است تا از ترکیبات گیاهی جهت دستیابی به ترکیبات آنتی‌میکروب و یا مواد نگه‌دارنده جدید استفاده شود که مشکل بروز باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک نیز از بین رود (Mirheydar, 1993).

گیاه اسپند (*Peganum harmala*) گیاهی چند ساله، متعلق به خانواده زیگوفیلاسه (*Zygophyllaceae*) بوده و به‌عنوان یک گیاه دارویی دارای کاربردهای متنوعی می‌باشد (Herraiz *et al.*, 2010). این گیاه در مناطق نیمه خشک و خاک‌های ماسه‌ای بویژه در آفریقای شمالی و خاورمیانه رشد می‌کند (El-Bahri and Chemli, 1991). هم‌چنین، این گیاه در مناطق مختلف ایران چون خراسان، سیستان و بلوچستان و یزد رشد می‌نماید (Mahdavi *et al.*, 2002). دانه‌های این گیاه حاوی ۲ تا ۶٪ آلکالوئیدهای فعال فارماکولوژیکی می‌باشد (El-Rifaie, 1980) که اغلب آنها ترکیبات بتا-کاربولین (*B-carboline*)، شامل هارمان (Harman)، هارمین (*Harmine*)، هارمالین (*Harmaline*) و هارمالول (*Harmalol*) می‌باشند (Nenaah, 2010; Herraiz *et al.*, 2010). هارمالین از نظر داروشناسی دارای اثرات سمی، قارچ‌کش و باکتری‌کشی می‌باشد (Hashemi *et al.*, 2011; Mahmoudian *et al.*, 2002; Hashem *et al.*, 2011; Frison *et al.*, 2008; Nenaah, 2010;).

دانه گیاه اسپند در ایران از دیرباز به‌عنوان یکی از

گیاهان دارویی مهم در طب سنتی مطرح بوده است. خصوصیات فارماکولوژیک متعددی برای اسپند در نظر گرفته‌اند که از این جمله اثرات ضد میکروبی، ضد تومور و مهارکننده فعالیت مونوآمینوآکسیدازی آن می‌باشد (Abdel-Fattah *et al.*, 1997; Hayet *et al.*, 2010). در ایران و ترکیه دود اسپند به شکل وسیع به‌عنوان یک عادت فرهنگی متداول و یک عامل ضد عفونی‌کننده به کار می‌رود (Shahverdi *et al.*, 2008).

باکتری‌های *اشریشیا کلی* (*O157:H7 Escherichia coli*)، *سالمونلا تیفی موریوم* (*Salmonella Typhimurium*) و *لیستریا مونوسیتوژنز* (*Listeria monocytogenes*) از عوامل مهم مسبب عفونت‌های ناشی از مصرف مواد غذایی می‌باشند. *اشریشیا کلی O157:H7* می‌تواند منجر به ایجاد بیماری‌های کشنده‌ای از قبیل کولیت هموراژیک (Tesh and O'Brien, 1991)، سندرم همولیتیک اورمیک و ترومبوتیک ترومبوسایتوپنیک پورپورا (O'Brien and Kaper, 1998) با دوز عفونی بسیار اندک در حد ۱۰ میکروارگانیسم گردد (FDA, 2001). *سالمونلا تیفی موریوم* از جمله سرورگروپ‌های *سالمونلا* می‌باشد که دارای میزبان اختصاصی نمی‌باشد (Foley and Lynne, 2008) و به‌عنوان یک عامل بیماری‌زای منتقله از مواد غذایی، خطراتی را برای بهداشت انسانی در بر دارد (Foley and Lynne, 2008). مطالعات اخیر نشان داد، که این سروتیپ جزو غالب‌ترین سروتیپ‌های *سالمونلا* جدا شده از موارد گاستروانتریت در انسان با منشا غذایی می‌باشد (Herikstad *et al.*, 2002). لیستریوز انسانی به واسطه *لیستریا مونوسیتوژنز* منجر به مننژیت، مننگوانسفالیت، باکتری می و سپتی سمی می‌شود و

مواد و روش‌ها

تهیه عصاره متانولی گیاه اسپند

گیاه اسپند در فصل تابستان از دشت‌های استان خراسان جمع‌آوری و در سایه خشک شد. هویت گیاه توسط بخش گیاه پزشکی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد تأیید شد. پس از خشک شدن آسیاب گردید.

به منظور عصاره‌گیری، از روش خیساندن استفاده شد. به مقدار ۲۰۰ گرم از گیاه پودر شده، ۱۰۰۰ میلی‌لیتر متانول ۷۰ درصد اضافه و به مدت ۲۴ ساعت بر روی دستگاه تکان‌دهنده (Shaker) (PIP-Model R430, Iran) قرار گرفت. سپس محلول به کمک کاغذ صافی و قیف بوختر صاف شده و مجدداً به تفاله باقی‌مانده الکل ۷۰٪ اضافه شد و این بار نیز ارلن به مدت ۱۲ ساعت بر روی دستگاه تکان‌دهنده قرار داده شد. در نهایت محلول صاف شده توسط دستگاه تقطیر در خلاء در دمای ۵۰ درجه سلسیوس و سرعت چرخش ۷۰ دور در دقیقه تا ۱/۳ حجم اولیه تغلیظ گردید (Kordali et al., 2005; Mazandarani et al., 2007).

باکتری‌های مورد استفاده

باکتری‌های مورد استفاده در این مطالعه شامل *اشریشیا کلی* O157:H7 (ATCC: 35150)، *سالمونلا تیفیسی موریموم* (ATCC: 14028) و *لیستریا مونوسییتوژنز* (ATCC: 7644) بودند. برای به‌دست آوردن سوسپانسیون باکتریایی ابتدا هر کدام از باکتری‌های استاندارد بر روی محیط کشت عصاره قلب و مغز (Brain Heart Infusion Agar -BHA) کشت و به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سلسیوس گرمخانه‌گذاری شدند. سپس از پرگنه‌های رشد کرده بر روی محیط کشت برداشت و به لوله‌ای استریل حاوی

کشنندگی بالایی دارد. بین سال‌های ۱۹۹۱ و ۲۰۰۲ در اروپا ۱۹ اپیدمی این باکتری در ۹ کشور مختلف گزارش شده است (De Valk et al., 2005).

تا بحال مطالعات زیادی راجع به اثر ضد میکروبی عصاره‌های گیاهی صورت گرفته است (Darabpour et al., 2009; Safahani et al., 2011). داراب‌پور و همکاران (۲۰۱۱) به بررسی اثرات آنتی‌باکتریال عصاره اسپند علیه چند باکتری مقاوم به آنتی‌بیوتیک از جمله *سالمونلا تیفی* پرداختند. نتایج این مطالعه نشان داد که عصاره اسپند اثرات آنتی‌باکتریال خوبی علیه میکروارگانسیم‌های دارای مقاومت به چندین آنتی‌بیوتیک دارد. در مطالعه صفاهانی و همکاران (۲۰۱۱) اثر ضدباکتریایی ۲۳ گونه مختلف گیاهی از جمله اسپند بر روی *استافیلوکوکوس (Staphylococcus)* مقاوم و حساس به متی‌سیلین بررسی گردید که نشان‌دهنده اثر بسیار خوب گیاه اسپند بود. در مطالعه دیگری اثر عصاره الکلی گیاه اسپند بر روی مخمرهای جنس *کاندیدا (Candida)* و کپک‌های *آسپرژیلوس (Aspergillus)* بیماری‌زا در شرایط آزمایشگاهی بررسی گردید. بر اساس یافته‌های این مطالعه، عصاره الکلی دانه‌های اسپند فعالیت مهارکننده و کشنده معنی‌داری بر روی مخمرهای *کاندیدا* نشان داد (Diba et al., 2009).

با توجه به اثرات ضد میکروبی گزارش شده از گیاه اسپند، این مطالعه با هدف تعیین اثرات ضدباکتریایی این گیاه علیه برخی از باکتری‌های مهم بیماری‌زای منتقله از مواد غذایی انجام گرفت.

محلول سرم فیزیولوژی منتقل گردید تا از لحاظ کدورت ظاهری هماهنگ با لوله ۰/۵ مک فارلند شود. سوسپانسیون تهیه شده حاوی $10^8 \times 1/5$ cfu/ml (واحد تشکیل دهنده پرگنه در هر میلی لیتر محلول) در نظر گرفته شد. جذب نوری این سوسپانسیون در طول موج ۶۲۵ نانومتر، معادل ۰/۱ بود (CLSI, 2012).

تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی (Minimum Inhibitory Concentration -MIC) عصاره متانولی اسپند

ابتدا جهت به دست آوردن غلظت ۲۰٪ عصاره، ۲ گرم از عصاره در ۱۰ میلی لیتر آب مقطر استریل حل گردید و سپس از این محلول رقت‌های متوالی تهیه گردید. بنابراین غلظت‌های مورد استفاده در این مطالعه از ۰/۱ میلی گرم در هر میلی لیتر تا ۲۰۰ میلی گرم در هر میلی لیتر بودند.

حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره (MIC) با استفاده از روش سری دو برابر رقت لوله‌ای (Macro broth dilution) در محیط مولر هیتتون برات تعیین گردید (Chandrasekaran and Venkatesalu, 2004). در این آزمایش از یک سری ۱۲ تایی لوله آزمایش استفاده شد. عصاره در لوله شماره ۱ با غلظت ۲۰۰ میلی گرم در هر میلی لیتر (۰/۲ گرم در میلی لیتر محیط کشت) تا لوله شماره ۱۲ با غلظت ۰/۱ میلی گرم در هر میلی لیتر (۰/۰۰۰۱ گرم در میلی لیتر محیط کشت) رقت‌سازی شد. در هر لوله تلقیح باکتری به میزان 10^6 واحد تشکیل دهنده پرگنه در هر میلی لیتر انجام شد. برای هر رقت یک لوله کنترل منفی حاوی محیط مولر هیتتون برات و عصاره متانولی اسپند بدون تلقیح باکتری در نظر گرفته شد. هم‌چنین، برای هر سری آزمایش، یک لوله

کنترل مثبت حاوی محیط مولر هیتتون برات، فاقد عصاره اسپند و تلقیح باکتری مد نظر قرار گرفت. کلیه لوله‌ها در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری شدند. پس از آن لوله‌ها از نظر کدورت ناشی از رشد باکتری تلقیح شده بررسی و لوله حاوی کمترین غلظت عصاره که کدورت قابل مشاهده در آن ایجاد نشده بود، به عنوان کمترین غلظت مهارکنندگی رشد باکتری (MIC) تعیین گردید. آزمایش برای هر یک از باکتری‌ها در دو تکرار انجام شد (Chandrasekaran and Venkatesalu, 2004).

تعیین حداقل غلظت باکتری‌کشی (Minimum Bactericidal Concentration -MBC) عصاره متانولی گیاه اسپند

پس از تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) از لوله‌های فاقد کدورت رشد، مقدار ۰/۱ میلی لیتر برداشته و روی پلیت‌های حاوی محیط مولر هیتتون آگار به صورت سطحی کشت داده شد. پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سلسیوس گرمخانه‌گذاری و بعد از ۲۴ ساعت پلیت‌ها از جهت رشد یا عدم رشد باکتری‌ها مورد بررسی قرار گرفتند. پلیت دارای کمترین غلظت که مانع از رشد باکتری و تشکیل پرگنه بر روی محیط کشت شده بود، به‌عنوان حداقل غلظت باکتری‌کشی (MBC) تعیین گردید (Chandrasekaran and Venkatesalu, 2004).

تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) آنتی‌بیوتیک حداقل غلظت مهارکنندگی آنتی‌بیوتیک سفکسیم (Sigma-Aldrich, Germany) برای باکتری‌های اشریشیا کلی و سالمونلا تیفی موریوم، و کلرامفنیکل (Sigma-Aldrich, Germany) تنها برای باکتری

مهارکنندگی (MIC) آنتی‌بیوتیک در نظر گرفته شد (CLSI, 2012; Chandrasekaran and Venkatesalu, 2004).

یافته‌ها

عصاره متانولی اسپند توانست در غلظت ۱/۵۶ میلی‌گرم در هر میلی‌لیتر رشد باکتری *اشریشیا کلی* O157:H7 و *سالمونلا تیفی موریوم* را مهار نماید. در حالیکه غلظت مهاری رشد در ارتباط با باکتری *لیستریا مونوسیتوژنز* ۰/۷۸ میلی‌گرم در هر میلی‌لیتر بود. حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) عصاره متانولی اسپند و آنتی‌بیوتیک‌های سفکسیم و کلرامفنیکل و حداقل غلظت باکتری‌کشی (MBC) عصاره متانولی اسپند در جدول (۱) نشان داده شده است.

لیستریا مونوسیتوژنز با روش ماکروبراث دایلوژن در محیط مولر هیتون براث ارزیابی گردید. جهت تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی آنتی‌بیوتیک سفکسیم از یک سری ۸ تایی لوله آزمایش استفاده شد. آنتی‌بیوتیک سفکسیم در لوله اول با غلظت ۲۵ میکروگرم در میلی‌لیتر تهیه گردید و سایر رقت‌های مورد استفاده از آن تهیه گردید. غلظت‌های نهایی آنتی‌بیوتیک سفکسیم مورد استفاده از ۰/۲ تا ۲۵ میکروگرم در میلی‌لیتر بودند. در خصوص کلرامفنیکل نیز از رقت ۰/۴ تا ۵۰ میکروگرم در میلی‌لیتر استفاده گردید. پس از آن هر کدام از لوله‌ها به میزان 10^6 واحد تشکیل دهنده پرگه در هر میلی‌لیتر محیط کشت بوسيله باکتری‌های مورد مطالعه تلقیح گردیدند. تمامی لوله‌ها در ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری شدند. بعد از این مدت لوله‌ای که در آن هیچ‌گونه کدورت قابل مشاهده‌ای نبود به‌عنوان کمترین غلظت

جدول (۱) - حداقل غلظت میلی‌گرم در هر میلی‌لیتر مهارکنندگی و باکتری‌کشی عصاره متانولی اسپند و حداقل غلظت میلی‌گرم در هر میلی‌لیتر مهارکنندگی آنتی‌بیوتیک‌های مورد بررسی بر روی باکتری‌های مورد آزمایش

گونه باکتریایی	حداقل غلظت مهاری رشد			عصاره متانولی اسپند
	سفکسیم	کلرامفنیکل	عصاره متانولی اسپند	
<i>اشریشیا کلی</i> O157:H7	۱/۵۶	-	۱/۵۶	
<i>سالمونلا تیفی موریوم</i>	۱/۵۶	-	۱/۵۶	
<i>لیستریا مونوسیتوژنز</i>	-	۱۲/۵	۰/۷۸	

- : برای باکتری مذکور از این آنتی‌بیوتیک جهت مقایسه استفاده نشده است.

بحث و نتیجه گیری

بروز اثرات ناخواسته و سمی باقی مانده‌های دارویی در مواد غذایی توجه پژوهشگران را به استفاده از گیاهان دارویی به عنوان نگه‌دارنده جلب کرده است. در این میان اثرات ضد میکروبی بسیاری از گیاهان مورد استفاده در طب سنتی جهت کاهش یا مهار رشد باکتری‌ها مورد بررسی قرار گرفته است (Chandrasekaran and Venkatesalu, 2004; Ekhaise *et al.*, 2010; Valero *et al.*, 2010; Oussalah and Saucier, 2007). عصاره گیاه اسپند دارای آکالوئیدهای مختلفی می‌باشد که دارای اثرات ضد میکروبی می‌باشند (Hayet *et al.*, 2010; Nenaah, 2010; El-Rifaie, 1980; 2010). در مطالعه‌ای نشان داده شد که تمام اجزای تشکیل دهنده گیاه اسپند (عصاره‌های کلروفرم، متانولی و غیره) فعالیت خوبی علیه *Staphylococcus aureus* (استافیلوکوکوس اورئوس) دارند (Prashanth and John, 1999).

در مطالعه حاضر عصاره متانولی اسپند توانست در غلظت ۱/۵۶ میلی‌گرم در هر میلی‌لیتر رشد باکتری *اشریشیا کلی* O157:H7 و *سالمونلاتیفی موربیوم* را مهار نماید. ننا (۲۰۱۰) نیز در مطالعه‌ای به بررسی اثرات ضدباکتریایی و ضدقارچی آکالوئیدهای بتا-کاربولین گیاه اسپند پرداخت. او در این مطالعه مشاهده کرد که هارمان موجود در اسپند دارای بیشترین فعالیت علیه باکتری *اشریشیا کلی* می‌باشد (Nenaah, 2010). پراشانث و جان (۱۹۹۹) نیز در مطالعه خود نشان دادند که عصاره متانولی اسپند دارای فعالیت ضد باکتریایی می‌باشد (Prashanth and John, 1999). داراب پور و همکاران (۲۰۱۱) نیز در مطالعه‌ای به بررسی اثرات ضدباکتریایی عصاره اسپند علیه چند باکتری مقاوم به

آنتی‌بیوتیک پرداختند. در مطالعه آنها میزان MIC عصاره برای باکتری *سالمونلا تیفی* ۰/۶۲۵ میلی‌گرم در هر میلی‌لیتر به دست آمد. عصاره متانولی اسپند در مطالعه حاضر توانست در غلظت ۱/۵۶ میلی‌گرم در هر میلی‌لیتر باکتری *اشریشیا کلی* O157:H7 و *سالمونلا تیفی موربیوم* را از بین ببرد که این یافته‌ها با نتایج مطالعه داراب پور و همکاران (۲۰۱۱) هم‌خوانی داشت.

میزان MIC و MBC عصاره اسپند برای باکتری *لیستریا مونوسیتوژنز* در مطالعه حاضر ۰/۷۸ میلی‌گرم در هر میلی‌لیتر تعیین شد. داراب پور و همکاران نیز در مطالعه خود اثر ضدلیستریایی عصاره ریشه اسپند را در غلظت‌های ۵۰ تا ۴۰۰ میلی‌گرم در هر میلی‌لیتر مشاهده نمودند. این در حالیست که هیچ‌کدام از آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده در مطالعه ذکر شده قادر به مهار رشد این باکتری نبودند (کولیستین ۱۰ میکروگرم، متیسیلین ۵ میکروگرم، نالیدیکسیک اسید ۳۰ میکروگرم). در حالیکه در مطالعه حاضر عصاره اسپند توانست در غلظت بسیار پایین‌تری رشد باکتری را مهار نماید. پس با توجه به این می‌توان گفت که عصاره اسپند دارای اثرات ضدلیستریایی بوده و می‌توان از آن جهت کنترل این عامل بیماری‌زا استفاده نمود.

در مطالعه هاشمی و همکاران (۲۰۱۱) بررسی اثر ضدباکتریایی عصاره متانولی گیاهان *اویشن شیرازی*، *مورد* و اسپند بر روی سوش‌های استاندارد و ایزوله‌های بالینی *پسودوموناس آئروجینوزا* (*Pseudomonas aeruginosa*) حاوی بتالاکتاماز با طیف وسیع انجام گرفت. ۶۰ درصد از نمونه‌ها مقاوم به سفوتاکسیم، ۶۶ درصد مقاوم به سفتازیدیم، ۴۲ درصد مقاوم به آزترونام، ۳ درصد مقاوم به ایمپنم و ۵ درصد مقاوم به

استافیلوکوکوس اورئوس و ۴ گرم در هر میلی لیتر آمیکاسین برای میکروکوکوس لوتئوس و ۴۰ گرم در هر میلی لیتر جهت پseudomonas آئروژینوزا داشت (Fazlibazaz et al., 1996). باتوجه به اینکه برای یک آنتی بیوتیک استاندارد اثر ضد میکروبی در غلظت کمتر از ۱۰ گرم در هر میلی لیتر و برای یک ماده گیاهی خالص غلظت کمتر از ۱۰۰ گرم در هر میلی لیتر آن را به عنوان یک ماده ضد میکروب معرفی می کند، شاید بتوان آکالوئیدهای این گیاه را عامل مؤثری بر میکروبها دانست (Rios et al., 1988). در نتیجه با توجه به نتایج مطالعه حاضر می توان گفت که عصاره اسپند، تاثیر ضد میکروبی خوبی دارا می باشد.

در مطالعه فضلی بزاز و همکاران (۱۹۹۶) بیشترین تاثیر دود اسپند بر اشریشیا کلی و کاندیدا آلبیکنس مشاهده شد. در مقام دوم و سوم از لحاظ تاثیر دود اسپند به ترتیب، میکروکوکوس لوتئوس و استافیلوکوکوس اورئوس قرار داشته اند. کمترین تاثیر دود اسپند بر pseudomonas آئروژینوزا در مقام چهارم دیده شد. در مجموع نتایج این تحقیق نشان داد آکالوئیدها و دود اثرات ضد میکروبی خوبی به خصوص روی باکتری های گرم مثبت داشتند (Fazlibazaz et al., 1996). در مطالعه حاضر نیز عصاره گیاه اسپند به خوبی توانست رشد باکتری لیستریا مونوسیتوژنز را مهار نماید.

با توجه به اثرات خوب ضد باکتریایی گیاه اسپند که در این مطالعه مشاهده گردید، می توان نتیجه گیری نمود که عصاره متانولی اسپند دارای اثرات مهارکنندگی رشد بر روی باکتری های مهم بیماری زای منتقله از مواد غذایی می باشد. بنابراین با توجه به اثرات خوب

مروپنم بودند. از بین عصاره ها، آویشن شیرازی اثر بهتری در مقایسه با اسپند و مورد داشت. نتایج نشان دادند که سویه های بالینی pseudomonas آئروژینوزا بیشترین مقاومت را در مقابل سفنازیدیم و سفوناکسیم از خود نشان دادند. کمترین میزان مقاومت یا به عبارت دیگر، بیشترین میزان حساسیت نیز در مورد ایمپینم و مروپنم دیده شد (Hashemi et al., 2011). نتایج مطالعه ذکر شده نشان می دهد که از عصاره گیاه اسپند می توان علیه باکتری های مقاوم به آنتی بیوتیک استفاده کرد.

در مطالعه ای که توسط فضلی بزاز و همکاران (۱۹۹۶) صورت گرفت، اثرات ضد میکروبی دود و آکالوئیدهای تام گیاه اسپند با استفاده از روش رقت در آگار و تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی رشد میکروارگانیسم (MIC) بررسی شد. هم چنین اثر ضد میکروبی دود حاصل از سوزاندن وزن مشخصی از دانه های اسپند، در دستگاه مخصوص و وارد کردن دود به محیط کشت حاوی میکروب مطالعه شد و حداقل وزن اسپند سوزانده شده برای مهار رشد میکروب محاسبه شد. آکالوئیدهای تام بیشترین اثر را بر روی کاندیدا آلبیکنس (*Candida albicans*) در غلظت کمتر از ۱۰۰ گرم در هر میلی لیتر و هم چنین اثرات خوبی روی باکتری های گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس و میکروکوکوس لوتئوس (*Micrococcus luteus*) در غلظت کمتر از ۱۵۰ گرم در هر میلی لیتر نشان داد، در حالیکه بر باکتری های گرم منفی به ویژه pseudomonas آئروژینوزا در غلظت ۲۰۰۰ گرم در هر میلی لیتر کمترین پاسخ را نشان داد. غلظت های فوق به ترتیب اثری معادل ۸ گرم در هر میلی لیتر کلوتریمازول برای کاندیدا و ۱۰ گرم در هر میلی لیتر آمیکاسین برای

ضدباکتریایی مشاهده شده از عصاره اسپند، می‌توان از آن به‌عنوان یکی از اجزای فرمولاسیون محلول‌های شستشو و ضدعفونی مواد غذایی قبل از مصرف، شستشو و ضدعفونی ظروف و تجهیزات استفاده نمود.

منابع

- دیبا، کامبیز؛ گرامی شعار، محسن؛ شربت خوری، میترا و حسینپور، لیلی (۱۳۸۸). بررسی میزان مهارکنندگی عصاره الکلی دانه گیاه اسپند *Peganum harmala* بر روی گونه‌های کاندیدا و اسپرژیلوس در شرایط آزمایشگاهی. مجله پزشکی ارومیه، دوره ۲۰، شماره ۴، صفحات: ۲۷۱-۲۷۷.
- صفاهانی، علیرضا؛ عطائی، مهرداد؛ ربیعی، محمد؛ دادگر، تینا و قائمی عزت‌الله (۱۳۸۹). مقایسه فعالیت ضد میکروبی عصاره اتانولی، آبی و جوشانده تعدادی گیاهان دارویی استان گلستان علیه فعالیت باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس*. فصلنامه داروهای گیاهی، جلد اول، صفحات: ۴۱-۵۱.
- فضلی بزاز، بی بی صدیقه؛ محمدی، علی محمد و ثابتی نوقابی، زهرا (۱۳۷۶). بررسی اثرات ضد میکروبی دود و آلکالوئیدهای گیاه اسپند. دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد.
- میرحیدر، حسن (۱۳۷۲). فرهنگ گیاهی. جهاد دانشگاهی تهران، جلد ۵. صفحات: ۲۸۰-۲۸۶.
- هاشمی، علی؛ شمس، سعید؛ براتی، محمد و صمدانی عزیزه (۱۳۹۰). بررسی اثر ضد باکتریایی عصاره متانولی گیاهان آویشن شیرازی، مورد و اسپند بر روی سوش‌های استاندارد و ایزوله‌های بالینی *پسودوموناس آئروژینوزا* حاوی بتالاکتاماز با طیف وسیع. مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اراک، سال ۱۴، شماره ۴ (شماره پیاپی ۵۷)، صفحات: ۱۰۴-۱۱۲.
- Abdel-Fattah, A.F.M., Matsumoto, K. and Murakami, Y. (1997). Central Serotonin Level-Dependent Changes in Body Temperature Following Administration of Tryptophan to Pargyline and Harmaline-Pretreated Rats. *Gene Pharmacology*, 28: 405-409.
- Chandrasekaran, M. and Venkatesalu, V. (2004). Antibacterial and antifungal activity of *Syzygium jambolanum* seeds. *Journal of Ethnopharmacology*, 91: 105-108.
- Diba, K., Geramishoar, M., sharbatkhor, M. and Hosseinpur L. (2010). antifungal activity of alcoholic extract of *peganum harmala* in vitro, *The Journal Of Urmia University Of Medical Sciences*, 20(4): 277-271. [in Persian]
- Darabpour, E., Poshtkouhian Bavi, A., Motamedi, H. and Seyyed Nejad, S.M. (2011). Antibacterial Activity of Different Parts of *Peganum Harmala L.* Growing In Iran Against Multi-Drug Resistant Bacteria. *EXCLI Journal*, 10: 252-263.
- De Valk, H., Jacquet, C., Goulet, V., Vaillant, V., Perra, A., Simon, F., et al. (2005). Surveillance of *Listeria* infections in Europe. *Eurosurveillance*, 10: 251-255.
- Ekhaïse, F.O., Soroh, A.E. and Falodun, A. (2010). Antibacterial properties and preliminary phytochemical Analysis of methanolic extract of *ocimum gratissium* (scent Leaves). *Bayero Journal of Pure and Applied Sciences*, 3(2): 81-83.
- El-Bahri, L. and Chemli, R. (1991). *Peganum harmala L.*: a poisonous plant of North African. *Veterinary and human toxicology*, 33: 276-277.

-
- El-Rifaie, S. (1980). *Peganum Harmala*: Its Use in Certain Dermatoses. *International journal of dermatology*, 19: 221-222.
 - Fazli Bazaz, B.S., Mohammadi, A.M. and Sabeti Noghabi, Z. (1997). Antimicrobial effects of smoke and alkaloids of *Peganum harmala*. Faculty of Pharmacy, Mashhad University of Medical Sciences. [in Persian]
 - Foley, S.L. and Lynne, A.M. (2008). Food animal-associated *Salmonella* challenges: pathogenicity and antimicrobial resistance. *Journal of animal science*, 86: 173-187.
 - Food and Drug administration (FDA), (2001). *Foodborne Pathogenic Microorganisms and Natural Toxins Handbook*.
 - Frison, G., Favretto, D., Zancanaro, F., Fazzin, G. and Ferrara, S.D. (2008). A case of b-carboline alkaloid intoxication following ingestion of *Peganum harmala* seed extract. *Forensic Science International*, 179: 37-43.
 - Hashemi, A., Shams, S., Barati, M. and Samedani, A. (2011). Antibacterial effects of methanolic extracts of *Zataria multiflora*, *Myrtus communis* and *Peganum harmala* on *Pseudomonas aeruginosa* producing ESBL, *Arak Medical University Journal*, 14(4): 104-112. [in Persian]
 - Hashem, M. (2011). Antifungal Properties of Crude Extracts of Five Egyptian Medicinal Plants Against Dermatophytes and Emerging Fungi. *Mycopathologia*, 172: 37-46.
 - Hayet, E., Maha, M., Mata, M., Mighri, Z., Laurent, G. and Mahjoub, A. (2010). Biological activities of *Peganum harmala* leaves. *African Journal of Biotechnology*, 9(48): 8199-8205.
 - Herikstad, H., Motarjemi, Y. and Tauxe, R.V. (2002). *Salmonella* surveillance: a global survey of public health serotyping. *Epidemiology and infection*, 129: 1-8.
 - Mir Heydar, H. (1993). *Plant culture*. SID Tehran, Volume 5 Pages: 280-286.
 - Safahani, A. Ataie, M. Rabie, M. Dadgar, T. and Ghaemi, E. (2011). Comparison of Antibacterial Activity of Some of the Medical Plants Extracts of Golestan Province Against *Staphylococcus aureus*, *Journal Of Herbal Drugs*, 1(4); pages: 51-41.

***In vitro* assessment of antimicrobial effect of methanolic extract of *Peganum harmala* against some important foodborne bacterial pathogens**

Zeinali, T.¹, Mohsenzadeh, M.^{2*}, Rezaeian-Doloei, R.³, Nabipour, R.⁴

1- Specialist in Food Hygiene, Graduated from Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

2- Associate Professor, Department of Food Hygiene and Aquaculture, School of Veterinary Medicine, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

3- Assistant Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Mashhad Branch, Islamic Azad University, Mashhad, Iran

4- Dentistry Student of Guilan University of Medical Sciences, Rasht, Iran

*Corresponding author email: mohsenza@um.ac.ir.com

(Received: 2014/12/3 Accepted: 2016/2/4)

Abstract

Foodborne bacterial pathogens play an important role in food infections/intoxications in human population. With ever increasing the number of antibiotic-resistant bacterial strains, there is an attempt to use the antimicrobial properties of herbs. *Peganum harmala* is a medicinal plant of Iranian traditional medicine which was used as an antiseptic in the past. Among the foodborne bacterial pathogens, *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella Typhimurium* and *Listeria monocytogenes* are considered as the most important and hazardous pathogens. The aim of this study was to evaluate the antibacterial effect of methanolic extract of *Peganum harmala* against these bacteria *in vitro*. The minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentrations (MBC) of methanolic extract of *Peganum harmala* was determined against three foodborne bacterial pathogens by micro-dilution method in Muller-Hinton broth. According to the results, MIC for *E. coli* O157:H7 and *S. Typhimurium* was 1.56 mg/ml. In the case of *L. monocytogenes*, it was estimated at 0.78 mg/ml. Moreover, results revealed that MBC for these organisms was similar to MIC concentrations. Regarding the results, *Peganum harmala* can be used as an ingredient in the formula of the disinfectants applied in the food systems.

Key words: Methanolic extract of *Peganum harmala*, *Salmonella Typhimurium*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157:H7