پژوهنده (مجله پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی)
سال هفدهم، شماره ۴، پی در پی ۸۸، صفحات ۱۹۶ تا ۲۰۲
مهر و آبان ۱۳۹۱

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۱/۱/۲۶
تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۱/۱۰/۳۰

بررسی اثر ضد میکروبی عصاره هیدروالکلی برگ کهور (Prosopis Sp)

علی طاهری*[۱]، امیر سیفان[۲]، سمیرا جلالی نژاد[۳]، فاطمه ناصری[۴]

۱. استادیار فرآوری محصولات شیلاتی، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار
۲. فارغ‌التحصیل مهندسی منابع طبیعی- فرآوری محصولات شیلاتی، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار
۳. دانشجوی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی زاهدان، واحد بین‌الملل چابهار (سینا)
۴. کارشناس ارشد بیوتکنولوژی، سازمان دامپزشکی ایران، اداره دامپزشکی شهرستان چابهار

چکیده

سابقه و هدف: مقاومت میکروارگانیزم‌ها به داروها تهدیدی اساسی است که نیاز به جستجوی مواد ضد میکروبی را ایجاب می‌کند. گیاهان موادی برای حفاظت خود از میکروب‌ها فراهم می‌کنند که قابلیت استفاده به عنوان دارو دارند. هدف از این مطالعه بررسی خواص ضد میکروبی عصاره برگ کهور روی برخی باکتری‌های بیمارستانی می‌باشد.

مواد و روشها: مطالعه در دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار انجام شد. عصاره هیدروالکلی برگ کهور استخراج شد و پس از اتوکلاو کردن، اثر غلظتهای ۱۰، ۲۰، ۴۰ و ۸۰ mg/ml آن روی ۴ سویه باکتری بیمارستانی به روش انتشار نفوذی بررسی گردید. سپس این نتایج با آنتی‌بیوتیک‌های استاندارد مقایسه گردید. غلظتهای حداقل مهارکنندگی رشد و حداقل کشندگی به روش رقت لوله‌ای مطالعه شد و داده‌ها با آزمونهای تجزیه واریانس و دانکن تجزیه و تحلیل گردید.

یافته‌ها: این عصاره هیدروالکلی پس از اتوکلاو نمودن خاصیت ضد میکروبی از خود نشان داد. غلظت ۴۰ و ۸۰ mg/ml بر باکتری استافیلوکوکوس اورئوس بیشترین تأثیر را داشت که اختلاف معنی‌داری با تیمارهای دیگر و آنتی‌بیوتیک‌های استاندارد داشت ($p<۰/۰۵$). عصاره کهور بر باکتری سودوموناس آئروژینوزا تأثیری نشان نداد. غلظت ۸۰ mg/ml بالاترین تأثیر را بر اشریشیاکلی و ویبریو کلرا داشت ($p<۰/۰۵$) که با تمام تیمارهای دیگر اختلاف معنی‌داری داشت ($p<۰/۰۵$). کمترین میزان لازم ممانعت کنندگی برای استافیلوکوکوس اورئوس و ویبریو کلرا ۲ mg/ml بود. حداقل غلظت کشندگی برای این باکتری‌ها نیز در غلظتهای بالاتر به دست آمد.

نتیجه‌گیری: اتوکلاو نمودن ایجاد ترکیبات جدیدی با خواص ضد میکروبی می‌نماید. همچنین باکتری‌های بیمارستانی به کار رفته نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های معمول مقاومتر شده‌اند، درنتیجه عصاره برگ کهور در مقایسه با آنها از اثر ضد میکروبی بیشتری برخوردار است.

واژگان کلیدی: عوامل ضد باکتری، باکتری، کهور

لطفاً به این مقاله به صورت زیر استناد نمایید:
Taheri A, Seyfan A, Jalalinezhad S, Nasery F. Study of antibacterial effect of Prosopis sp. hydro-alcoholic extract. Pejouhandeh 2012;17(4):196-202.

مقدمه

مصرف روزافزون داروهای شیمیایی باعث ایجاد مقاومت باکتریایی و عوارض جانبی دیگر می‌گردد که از خود بیماری خطرناکتر است (۱). امروزه به دلیل تغییر فرم مقاومتی باکتری‌ها و مقاوم شدن آنها به آنتی‌بیوتیک‌های معمول گرایش به جایگزینی آنها با آنتی‌بیوتیک‌های نوین می‌باشد و ازاین بین اخیراً فرآورده‌هایی با منشأ گیاهی که فعالیت ضد میکروبی از خود نشان می‌دهند جایگاه ویژه‌ای پیدا کرده‌اند (۲ و ۳). گیاهان تا چند دهه گذشته به عنوان دارو مورد استفاده بودند و امروزه با وجود پیشرفت علوم و توسعه داروهای سنتزی، هنوز گیاهان دارویی در مقیاس گسترده مورد استفاده‌اند و طب سنتی دوباره احیا می‌گردد (۴ و ۵). در سالهای اخیر تحقیقات گسترده‌ای به منظور ارزیابی اثر ضد میکروبی انواع اسانس‌ها و عصاره‌ها صورت گرفته است که حاکی از قدرت و توانایی این ترکیبات در ممانعت از رشد دامنه وسیعی از میکروارگانیزم‌های بیماریزاست (۶).

*نویسنده مسؤول مکاتبات: ، دکتر علی طاهری؛ آدرس: چابهار، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، صندوق پستی ۹۹۷۱۷-۵۶۴۹۹؛
پست الکترونیک: taheri@cmu.ac.ir

گیاه کهور از خانواده میموزاسه (Mimosaceae) (شکل ۱)، گیاهی است که در سواحل جنوبی کشور ایران در استانهای سیستان و بلوچستان، هرمزگان، بوشهر، خوزستان و جنوب فارس رویش دارد (۷). جنس کهور ۴۴ گونه را در بر می‌گیرد که ۴۰ گونه بومی آمریکاست و از میان آنها ۴ گونه کهور آمریکایی یا پاکستانی (*Prosopis julifilora*)، کهورک (*Prosopis farcta*)، کهور ایرانی (*Prosopis cineraria*) و کلزیان (*Prosopis koelziana*) در ایران یافت می‌شود. گیاه کهور در کشورهای مختلف از جمله هند، پاکستان، نیجریه، غنا، برزیل و پرو از اهمیت خاصی در اقتصاد روستایی برخوردار است و گزارشهای متعددی از ارزش غذایی و دارویی آن وجود دارد. در هند آنرا راه حل سبز آلودگی فلزات سنگین در معادن ساحلی می‌دانند؛ همچنین پناهگاه و مکان تخم‌ریزی پرندگان مهاجر و دارای اهمیت حفاظت محیط زیستی است. صمغ آن ماده بسیار مفیدی برای کپسوله کردن مواد است و ترکیبات دانه این گیاه به عنوان حجم دهنده و عامل ثبات در صنایع غذایی به کار می‌رود. به علاوه در طب سنتی در ترکیب با تنباکو برای تسکین درد دندان کاربرد داشته و قسمتهای مختلف گیاه حاوی ترکیبات پلی‌فنله و تانن با اهمیت پزشکی است (۱۱-۸). از جمله خواص مهم دارویی کهور خواص ضد میکروبی آن است (۱۴-۱۲).

شکل ۱- گیاه کهور مورد استفاده در تحقیق حاضر

در حال حاضر مقاومت باکتریایی به یک مشکل بزرگ جهانی تبدیل شده است چنان که شعار سال ۲۰۱۱ سازمان جهانی بهداشت "مقاومت به داروهای ضد میکروبی یک تهدید جهانی" می‌باشد.

برخی باکتری‌های گرم منفی مانند اشریشیاکلی و سودوموناس آئروژینوزا و برخی از باکتری‌های گرم مثبت مانند استافیلوکوکوس اورئوس دارای ویژگیهای خاصی در عفونتهای باکتریایی می‌باشند و از بیشتر نمونه‌های کلینیکی ارجاع شده به آزمایشگاههای تشخیص طبی جداسازی می‌گردند (۱۵ و ۱۶). از سویی دیگر سالانه گزارشهایی از ابتلا به وبا توسط ویبریو کلرا که یک باکتری گرم منفی است گزارش می‌شود. ابتلا به این باکتری در شهرستانهای جنوبی کشور به دلیل مصرف خام یا نیمه خام آبزیان و یا خوردن سبزیجات آلوده که توسط فاضلاب آبیاری شده‌اند دیده شده است. بر این اساس به دلیل اهمیت گیاهان دارویی در طب سنتی و عوارض جانبی بسیار اندک این داروها بر انسان، در مطالعه حاضر به بررسی اثر ضد میکروبی عصاره هیدروالکلی برگ گیاه کهور بر این باکتری‌های بیمارستانی پرداخته شده است.

مواد و روشها

مطالعه حاضر در سال ۱۳۹۰ در آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار انجام گردید. عصاره‌گیری با اندکی تغییر بر اساس منبع (۱۷) انجام شد: برگهای گیاه کهور در فصل بهار در شهرستان چابهار جمع‌آوری، شستشو و خشک گردید. ۶۰۰ گرم پودر برگ آسیاب شده با ۵۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر و الکل اتیلیک ۹۶ درجه به نسبت ۱ به ۱ مخلوط و به مدت دو روز در تاریکی نگهداری شد. هر ۱۶ ساعت محتویات ارلن به مدت ۲۵ دقیقه به هم زده شد و در پایان محتویات ارلن به وسیله کاغذ صافی واتمن شماره ۴۱ صاف شد و مایع صاف شده در دستگاه تبخیرگر چرخان تحت خلأ (Rotary evaporator) در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد عصاره‌گیری گردید. عصاره تغلیظ شده در پتری دیش‌های استریل ریخته شده و در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد آون خشک گردید. پودر خشک شده جمع‌آوری و با آب مقطر استریل، غلظتهای ۱۰، ۲۰، ۴۰ و ۸۰ mg/ml تهیه شد و ۲ قسمت گردید: یک قسمت بدون اتوکلاو نمودن مورد بررسی خواص ضد میکروبی قرار گرفت و یک قسمت اتوکلاو شد و مورد بررسی قرار گرفت.

باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس، سودوموناس آئروژینوزا، ویبریو کلرا سروتیپ اوگاوا (*ogava*) و اشریشیاکلی از نمونه‌های بیماران مراجعه کرده به بیمارستان امام علی شهرستان چابهار پس از آزمایشهای تخصصی میکروبیولوژیک برای تأیید میکروارگانیزم‌ها، تهیه گردید. سویه‌های باکتریایی تهیه شده توسط سازمان دامپزشکی کشور و آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشگاه علوم پزشکی سیستان و بلوچستان تأیید گردید. کشتهای خالص در محیط کشت نوترینت آگار کشت و تا زمان مطالعه در دمای یخچال نگهداری شد (۱۸).

یک روز قبل از انجام آزمایش از کشت مادر مقداری به محیط مولر هینتون براث اضافه گردید و پس از ۲۴ ساعت

انکوباسیون در فاز لگاریتمی رشد باکتری، با استفاده از اسپکتروفتومتر، غلظت باکتری‌ها با لوله استاندارد مک فارلند شماره ۰/۵ ($۱/۵ \times ۱۰^{۸}$) برابر شد. این سوسپانسیون به عنوان ذخیره در نظر گرفته شد و در هنگام مصرف در همان روز به نسبت ۱:۱۰۰ در محیط مشابه رقیق گردید ($۱/۵ \times ۱۰^{۶}$) (۱۹).

حساسیت میکروارگانیزم‌های بیمارستانی به عصاره کهور با استفاده از روش نفوذ انتشاری (Disk diffusion) بررسی گردید. ۲۰ میکرولیتر سوسپانسیون باکتریایی روی محیط کشت نوترینت آگار چکانده شد و با یک سوآپ کتان استریل روی محیط گسترش یافت. دیسک‌های خام استریل به قطر ۶ میلی‌متر روی سطح محیط کشت قرار گرفت و ۱۵ میکرولیتر از محلول کهور در غلظت مشخص روی دیسک‌ها چکانده شد. از دیسک‌های استاندارد استرپتومایسین ۱۰، جنتامایسین ۱۰، تتراسایکلین ۳۰ و اریترومایسین ۱۵ ساخت شرکت ایران دارو به عنوان استاندارد استفاده گردید. پلیت‌ها ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند و هاله عدم رشد باکتری‌ها با استفاده از کولیس ورنیه اندازه‌گیری و ثبت شد. آزمایشها با ۳ تکرار انجام گردید.

با استفاده از روش رقت لوله‌ای، حداقل غلظت مهارکنندگی رشد یا Minimum Inhibitory Concentration (MIC) و حداقل غلظت کشندگی یا Minimum Lethal Concentration (MLC) عصاره کهور تعیین گردید (۲۰ و ۲۱). برای هر غلظت و هر باکتری یک سری لوله آزمایش ۹ تایی استفاده گردید. ۷ لوله برای رقت‌های مختلف، یک لوله شاهد مثبت و یک لوله شاهد منفی بود. به لوله‌های آزمایشی ۹ میلی‌لیتر محلول نوترینت براث اضافه شده و استریل گردید. ۱۰۰۰ میکرولیتر از رقت عصاره کهور به لوله اول اضافه شد و پس از هموژن شدن ۱۰۰۰ میکرولیتر از مایع هموژن به لوله دوم اضافه شد و این عمل ادامه یافت و از لوله هفتم ۱۰۰۰ میکرولیتر محلول هموژن دور ریخته شد. به تمامی لوله‌ها غیر از شاهد منفی ۱۰ میکرولیتر سوسپانسیون باکتری مطابق لوله ۱ مک فارلند اضافه شد. همه لوله‌ها برای ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند و پس از آن لوله‌ها از نظر کدورت ناشی از رشد باکتری بررسی شدند. آخرین لوله‌ای که هیچ کدورتی دیده نشد به عنوان حداقل غلظت ممانعت کنندگی رشد در نظر گرفته شد. از همه لوله‌های فاقد کدورت رشد جهت تعیین حداقل غلظت کشندگی عصاره مورد به روش پور پلیت (Pour Plate) کشت داده شد و آخرین غلظتی از عصاره که قادر به مرگ ۹۹/۹٪ از باکتری‌های زنده اولیه بود به عنوان حداقل غلظت کشندگی میکروارگانیزم‌ها در نظر گرفته شد (۲۲ و ۲۳). کلیه آزمایشها در ۳ تکرار انجام شد و از نرم‌افزار Graphpad-Prism 7.00 و آزمون تجزیه واریانس برای تجزیه و تحلیل داده‌ها و آزمون دانکن برای مقایسه تیمارها استفاده گردید.

یافته‌ها

عصاره هیدروالکلی استخراج و حل شده در آب مقطر قبل از اتوکلاو کردن هیچ خاصیت ضد میکروبی بر سویه‌های باکتری نامبرده نداشت ولی پس از اتوکلاو نمودن خاصیت ضد میکروبی از خود نشان داد. جدول ۱ نتایج حاصل از آزمون انتشار نفوذی عصاره کهور با غلظتهای مختلف بر روی میکروارگانیزم‌های تحت مطالعه را نشان می‌دهد. بر این اساس غلظت ۴۰ و ۸۰ mg/ml عصاره کهور بر باکتری استافیلوکوکوس اورئوس بیشترین تأثیر را نشان داد که اختلاف معنی‌داری با تمامی تیمارهای دیگر و آنتی‌بیوتیک‌های استاندارد داشت و هاله عدم رشد بیشتری نشان داد ($p<۰/۰۵$). غلظتهای کمتر نیز با یکدیگر اختلاف معنی‌داری نشان دادند که همگی با آنتی‌بیوتیک‌های استاندارد اختلاف معنی‌داری داشتند ($p<۰/۰۵$). اریترومایسین و استرپتومایسین بر روی باکتری تأثیری نشان ندادند.

عصاره کهور در هیچ کدام از غلظتها بر باکتری سودوموناس آئروژینوزا تأثیری نشان نداد و بالاترین تأثیر در بین آنتی‌بیوتیک‌های استاندارد مربوط به جنتامایسین بود که با استرپتومایسین اختلاف معنی‌داری نشان داد ($p<۰/۰۵$).

در مطالعه تأثیر عصاره برگ کهور بر باکتری اشریشیاکلی نیز مشخص گردید که غلظت ۸۰ mg/ml بالاترین تأثیر را بر این سویه باکتری دارد ($p<۰/۰۵$) و غلظتهای ۴۰ mg/ml و ۲۰ با جنتامایسین اختلاف معنی‌داری نداشتند ($p>۰/۰۵$).

غلظت ۸۰ mg/ml بالاترین تأثیر را بر باکتری ویبریوکلرا نشان داد که با تمامی تیمارهای دیگر اختلاف معنی‌داری داشت ($p<۰/۰۵$). غلظتهای کمتر نیز تأثیر مثبتی نشان دادند که همگی با هم اختلاف معنی‌داری داشتند ($p<۰/۰۵$). غلظت ۲۰ mg/ml با آنتی‌بیوتیک‌های استاندارد اختلاف معنی‌داری نشان نداد ($p>۰/۰۵$). غلظت ۱۰ mg/ml اریترومایسین و استرپتومایسین نیز تأثیری بر اشریشیاکلی و ویبریو کلرا نشان ندادند.

نتایج حداقل غلظت ممانعت کنندگی از رشد و حداقل غلظت کشندگی میکروارگانیزم‌ها بعد از ۲۴ ساعت کشت در جدول ۲ نشان داده شده است. بر اساس نتایج این جدول عصاره برگ کهور بر باکتری سودوموناس آئروژینوزا تأثیری

نداشت. کمترین میزان لازم ممانعت کنندگی برای استافیلوکوکوس اورئوس و ویبریو کلرا mg/ml ۲ بود. حداقل غلظت کشندگی برای این باکتری‌ها نیز در غلظتهای بالاتر به دست آمد.

جدول ۱- مقایسه قطر هاله عدم رشد عصاره برگ کهور و آنتی‌بیوتیک‌های استاندارد

		استافیلوکوکوس اورئوس	سودوموناس آئروژینوزا	اشریشیاکلی	ویبریوکلرا
غلظت عصاره (mg/ml)	۱۰	^{c}۱۱/۶±۰/۸۴	*-	-	-
	۲۰	^{b}۱۲/۶ ±۰/۲۴	-	^{b}۸/۵ ± ۰/۱۴	^{c}۷/۴ ± ۰/۱
	۴۰	^{a}۱۵/۴۶ ± ۰/۱۸	-	^{b}۹ ± ۱/۱۷	^{b}۸/۱۲ ± ۰/۲
	۸۰	^{a}۱۵/۹۴ ± ۰/۴۸	-	^{a}۱۱/۹۸ ± ۰/۲۵	^{a}۱۰/۵ ± ۰/۳
آنتی‌بیوتیک	جنتامایسین	^{d}۱۰	^{a}۱۱/۲۹ ± ۰/۰۲	^{b}۸/۳	^{c}۷/۶ ± ۰/۰۴
	اریترومایسین	-	-	-	-
	تتراسایکلین	^{e}۷/۶ ± ۰/۱	-	^{c}۶/۲	^{cd}۶/۸۶ ± ۰/۰۴
	استرپتومایسین	-	^{b}۹/۹ ± ۰/۱	-	-

نتایج حاصل سه تکرار است، * هاله عدم رشد دیده نشد. وجود حداقل یک حرف هم نام در هر ستون نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار است. نتایج این جدول مربوط به عصاره برگ کهور پس از اتوکلاو نمودن است و به دلیل عدم وجود نتیجه در عصاره برگ کهور قبل از اتوکلاو نمودن این قسمت حذف شده است.

جدول ۲- مقایسه حداقل غلظت ممانعت کنندگی از رشد و حداقل غلظت کشندگی عصاره برگ مورد بر میکروارگانیزم‌ها

سویه باکتری	حداقل غلظت ممانعت کنندگی از رشد (mg/ml)	حداقل غلظت کشندگی (mg/ml)
استافیلوکوکوس اورئوس	۲	۱۰
سودوموناس آئروژینوزا	*-	*-
اشریشیاکلی	۲۰	*-
ویبریوکلرا	۲	۲۰

* عصاره کهور تاثیر نداشته است.

بحث

در مطالعه حاضر عصاره برگ کهور بیشترین تأثیر را بر استافیلوکوکوس اورئوس نشان داد که اختلاف معنی‌داری را با آنتی‌بیوتیک‌های استاندارد داشت و از آنها بهتر بود ($p<۰/۰۵$). تأثیر مثبت عصاره برگ کهور بر ویبریو کلرا سروتیپ اوگاوا نیز به خوبی دیده شد و تأثیر آن بر اشریشیاکلی نیز به شکل هاله مهار کنندگی بسیار قابل توجه بود، اگرچه قابلیت کشندگی نداشت و سودوموناس آئروژینوزا نیز کاملاً به عصاره کهور مقاومت نشان داد. در مطالعه این سویه‌های باکتری غلظت عصاره برگ کهور مورد استفاده نیز اختلاف معنی‌داری در نتایج ایجاد نمود.

مقاومت میکروارگانیزم‌ها به داروها تهدیدی اساسی برای سلامت انسان است که نیاز به جستجوی مواد ضد باکتریایی جدید را ایجاب می‌کند. گیاهان مواد منحصر به فردی برای حفاظت خود از میکروب‌ها تولید می‌کنند که قابلیت بالایی برای استفاده به عنوان دارو دارند (۲۴ و ۲۵).

گیاه کهور از گونه‌های اصلی پوشش فضای سبز درون و برون شهری استانهای ساحلی جنوب کشور می‌باشد که در ایران برای تغذیه احشام و در خارج برای تغذیه انسان و دام به کار می‌رود (۷ و ۲۶). گزارشهای متعددی در استفاده از این گیاه برای درمان سرفه، درد معده، دهان و چشم، زخم دهان احشام و زخم باز پوست وجود دارد (۲۹-۲۷). همچنین چای حاصل از کهور برای ناراحتی گوارشی و به عنوان لوسیون پوست مفید است و خواص ضد ارگانیزمی آن گزارش شده است.

تأثیر مثبت عصاره برگ کهور بر استافیلوکوکوس اورئوس با نتایج دیگر محققین همخوانی دارد (۱۲، ۱۳ و ۳۲-۳۰). بر اساس گزارش بوسمن و همکاران (۲۰۱۰) عصاره اتانولی کهور روی استافیلوکوکوس اورئوس مؤثر بود به طوری که ۱۵ میلی‌متر هاله مهار کنندگی داشت (۳۰). کلاپو و همکاران (۲۰۰۹) نیز تأثیر عصاره آبی و متانولی ریشه و ساقه کهور را علیه پاتوژن‌های دهانی از جنس استافیلوکوکوس با ۲۲ تا ۳۵ میلی‌متر هاله مهار کنندگی گزارش نمودند (۱۳). گزارشهای موجود عصاره متانولی ریزوم‌های ریشه دو گونه کهور را بر علیه استاف اورئوس با حداقل غلظت مهار کنندگی کمتر از mg/ml ۱ نشان داد (۱۲). سانچز و همکاران نیز تأثیر حداقل غلظت مهار کنندگی عصاره متانولی کهور را بر این سویه

باکتری mg/ml ۴ گزارش نمودند (۳۳). در گزارش ساموئیلنکو و همکاران (۲۰۰۹) نیز ترکیب ۲ و ۳ دی هیدرو ۱ اچ-ایندولیزینیوم کلرید استخراج شده از کهور دارای فعالیت ضد میکروبی علیه استافیلوکوکوس اورئوس با حداقل غلظت کشندگی ۰/۳۵ میکروگرم در میلی‌لیتر بود (۳۱). در این تحقیق نیز بیشترین میزان هاله مهار کنندگی ۰/۴۸±۱۵/۹۴ میلی‌متر بود و حداقل غلظت مهار کنندگی و غلظت کشندگی به ترتیب در ۲ و mg/ml ۱۰ دیده شد که بالاتر از گزارش‌های موجود می‌باشد که می‌تواند به دلیل مقاومتر بودن سویه‌های باکتری در این تحقیق باشد.

در مطالعه حاضر به غیر از سودوموناس آئروژینوزا، تأثیر آنتی‌بیوتیک‌های استاندارد بر روی میکروارگانیزم‌ها کمتر از عصاره برگ کهور در غلظتهای مختلف بود. تأثیر کمتر این آنتی‌بیوتیک‌ها می‌تواند مؤید مقاوم شدن سویه‌های باکتری نامبرده باشد و از سوی دیگر مطالعات مختلف تأثیر عصاره کهور بر سودوموناس آئروژینوزا را نشان داده است (۱۲ و ۳۲) اما عصاره برگ کهور در این تحقیق بر این باکتری تأثیر نداشته که شاید به علت جهش در این سویه باکتری باشد که همچنان به آنتی‌بیوتیک‌ها حساس اما به عصاره مقاوم شده است.

بر اساس گزارشهای موجود از ترکیب فیتوشیمیایی کهور، ساپونین، تانن، آلکالوئیدها، فنول‌ها و استروئیدها در قسمتهای مختلف این گیاه اعم از ریزوم‌های ریشه، برگ و غلاف دانه به میزان زیادی وجود دارد و خواص ویژه کهور به دلیل وجود آلکالوئیدهای پیریدین است. آلکالوئیدهای پیریدین ۲ دسته‌اند: دارای حلقه ایندولیزیدین و بدون حلقه ایندولیزیدین که هر دو خاصیت آنتی‌باکتریال دارند (۱۳).

در مطالعاتی که بر روی تأثیر کهور بر اشریشیاکلی انجام شده بیشتر گزارشها از قدرت مهار کنندگی عصاره مورد بر این سویه باکتری حکایت دارد (۳۲ و ۳۴). آگراوال و همکاران (۲۰۱۰) اثر ضد میکروبی گلیکوزیدهای ترپنی دانه کهور را روی اشریشیاکلی گزارش نمودند (۱۲). سینگ و همکاران (۲۰۱۱) روی عصاره برگ و غلاف دانه کار کردند و غلظت مهار کنندگی را بین ۲۵ تا ۱۰۰ میکرولیتر در میلی‌لیتر گزارش نمودند که عصاره برگ بیشترین تأثیر را به خصوص بر روی یک سویه اشریشیاکلی مقاوم به آمپی‌سیلین داشت (۳۵). اشریشیاکلی میکروارگانیزمی است که به چند نوع داروی آنتی‌باکتریال مقاوم است. گزارشهای دیگری نیز اثر کشندگی عصاره کهور را روی اشریشیاکلی نشان می‌دهد که نشان از پتانسیل بالای این گیاه برای کنترل میکروب‌های مقاوم به دارو حکایت دارد. در تحقیق حاضر نیز عصاره برگ کهور بر روی اشریشیاکلی هاله عدم رشد با ۰/۲۵±۱۱/۹۸ میلی‌لیتر قطر نشان داد اما در آزمایش حداقل غلظت کشندگی نتیجه‌ای حاصل نشد که می‌تواند دلیلی بر مقاوم شدن این سویه باکتری بیمارستانی باشد.

تاکنون گزارشی از تأثیر عصاره کهور بر باکتری عامل وبا یعنی ویبریوکلرا گزارش نشده است. نتایج تحقیق حاضر تأثیر مثبت عصاره هیدروالکلی برگ کهور را بر این سویه باکتری از سروتیپ اوگاوا نشان می‌دهد که بسیار بهتر از آنتی‌بیوتیک‌های مؤثر بر آن بود ($p<0/05$). در گزارشی که رهبر و همکاران (۱۳۸۶) ارائه دادند ویبریوکلرا سروتیپ‌های اینابا و اوگاوا به تتراسایکلین، اریترومایسین و آمپی‌سیلین حساس بودند (۳۶). در مقایسه می‌توان گفت که تأثیر کمتر آنتی‌بیوتیک‌ها در مطالعه حاضر می‌تواند نشان از مقاوم شدن این سویه باکتری باشد.

عصاره برگ گیاه کهور قبل از اتوکلاو نمودن تأثیری بر گونه‌های میکروبی نداشت ولی پس از اتوکلاو نمودن عصاره آثار ضد میکروبی از عصاره دیده شد. ایجاد خاصیت ضد میکروبی پس از اتوکلاو نمودن می‌تواند به این دلیل باشد که با اتوکلاو نمودن، برخی از ترکیبات شیمیایی استخراج شده چون ترپن‌ها و آلکالوئیدها شکسته شده و ایجاد ترکیبات جدیدی با خواص کاربردی جدید می‌نماید. پیشنهاد می‌گردد برای بررسی مواد مؤثره گیاه قبل و بعد از اتوکلاو نمودن مطالعات تکمیلی فیتوشیمیایی صورت پذیرد. با توجه به آزمایشگاهی بودن تحقیق محدودیتی در انجام تحقیق حاضر وجود نداشت اما در صورتی که امکان مطالعات فیتوشیمیایی و استفاده از دستگاه گاز کرماتوگرافی فراهم می‌شد مطالعه کاملتر انجام می‌گردید.

نتیجه‌گیری

در جمع‌بندی می‌توان گفت نتایج تحقیق حاضر نشان‌دهنده مقاوم بودن باکتری‌های بیمارستانی به کار رفته در این مطالعه به آنتی‌بیوتیک‌های معمول می‌باشد و تأثیر مثبت عصاره گیاه کهور نشان‌دهنده اثر بخش بودن عصاره هیدروالکلی برگ این گیاه بر این سویه‌های باکتریایی است که می‌تواند راهکار مناسبی برای معرفی یک آنتی‌بیوتیک گیاهی با عوارض کمتر، برای درمان بیماریهای حاصل از این سویه‌های باکتریایی باشد. به دلیل گزارشهای متعدد استفاده پزشکی گیاه کهور، تحقیقات گسترده آتی برای تبدیل ایده به پدیده بر اساس عصاره و اسانس قسمتهای مختلف این گیاه پیشنهاد می‌گردد.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از مدیریت و پرسنل محترم بیمارستان امام علی و اداره دامپزشکی شهرستان چابهار که صمیمانه با ما همکاری نمودند تشکر می‌نماییم. همچنین از دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار که امکان انجام این تحقیق را مهیا نمود تقدیر می‌نماییم.

REFERENCES

1. Mimica-Dukić N, Bugarin D, Grbović S, Mitić-Ćulafić D, Vuković-Gačić B, Orčić D. et al. Essential oil of *Myrtus communis* L. as a potential antioxidant and antimutagenic agents. Molecules 2010;15(4): 2759-70.

2. Harikrishnan R, Nisha Rani M, Balasundaram C. Hematological and biochemical parameters in common carp, *Cyprinus carpio*, following herbal treatment for *Aeromonas hydrophila* infection. Aquaculture 2003;221(1-4):41-50.

3. Immanuel G, Vincybai VC, Sivaram V, Palavesam A, Marian MP. Effect of butanolic extracts from terrestrial herbs and seaweeds on the survival, growth and pathogen (*Vibrio parahaemolyticus*) load on shrimp *Penaeus indicus* juveniles. Aquaculture 2004;236(1-4):53-65.

4. Zargari A. Medicinal plants. 6th ed. Tehran: Tehran University Publication; 1990. (Text in Persian)

5. Ghahraman A. Iran Floura. 15th ed. Tehran: Jungle and Pasture Research Institute Publication; 1983. (Text in Persian)

6. Naserian R. Study of phyto chemical and antibacterial effect of *Myrtus communis* (Dissertation). Shiraz: Shiraz University of Medicinal Sciences; 1997. (Text in Persian)

7. Nahal-Tahmasbi MR. Ecological study of American (Pukestanian) Kahoor and effectiveness for compost production in Hormozgan province. Agric Econ Develop 2000;31(8):305-323. (Full text in Persian)

8. Rai UN, Pandey K, Sinha S, Singh A, Saxena R, Gupta DK. Revegetating fly ash landfills with *Prosopis juliflora* L.: impact of different amendments and Rhizobium inoculation. Environ Int 2004;30(3): 293-300.

9. Senthilkumar P, Prince WS, Sivakumar S, Subbhuraam CV. *Prosopis juliflora*: a green solution to decontaminate heavy metal (Cu and Cd) contaminated soils. Chemosphere 2005;60(10):1493-96.

10. Hebbar SS, Harsha VH, Shripathi V, Hegde GR. Ethnomedicine of Dharwad district in Karnataka, India–plants used in oral health care. J Ethnopharmacol 2004;94(2-3):261-6.

11. FAO. Problems posed by the introduction of Prosopis SPP. in selected counteries. Rome: 2006; p. 35.

12. Agrawal R, Singh SK, Garg U, Garg HK. Antimicrobial activity of terpene glycoside from the seeds of *Prosopis spicigera*. J Curr Sci 2010;15(2):399-402.

13. Kolapo AL, Okunade MB, Adejumobi JA, Ogundiya MO. Phytochemical composition and antimicrobial activity of *Prosopis Africana* against some selected oral pathogens. World J Agric Sci 2009;5(1):90-93.

14. Aqeel A, Khursheed AK, Vigaruddin A, Sabiha Q. Antimicrobial activity of julifloricine isolated from *Prosopis juliflora*. Arzneimittelforschung 1989;39(6):652-5.

15. Rahimi M, Athari A. Translation of Jawetz Medical Microbiology. Brooks GF, Carroll KC, Butel J, Morse S. 24th ed. Tehran: Aeedj Institute; 2008;320-403. (Text in Persian)

16. Sharifi A, Naghmachi M, Bahrami S. Antimicrobial Activities of *Dorema auchri*. Armaghan Danesh Res Sci J Yasuj Univ Med Sci 2010;15(4);378-386. (Full text in Persian)

17. Sadeghi H. Anti hyperlipidemic and antihypercholestrolemic effectes of *Dorema auchri*. Proceedings of the second international seminar of traditional medicine. 2004; Iran. (Text in Persian)

18. Bradley M, Schumann GB, Ward PCJ. Examination of urine. In Henry JB, editor. Todd-Sanford-Davidsohn clinical diagnosis and management by laboratory methods. 17th ed. Philadelphia: WB Saunders Co; 2000.

19. Alishahi M, Ghorbanpour-Najafabadi M, Najafzadeh-varzi H, Pashmforoush M. Study of antibacterial effect of some herbal extracts against Streptococus iniai, Yersinia rukeri, Aeromonas hydrophyla. Iran J Vet 2010;6(2):21-30. (Full text in Persian)

20. Rios JL, Recio MC, Villar A. Screening methods of natural products with antimicrobial activity: a review of the literature. J Ethnopharmacol 1988;23(2-3):127-49.

21. Vanden Berghe DA, Vlietinck AJ. Screening methods for antibacterial and antiviral agents from higher plants. In: Dey PM, Harborne JB editors. Methods in plant biochemistry: Assays for Bioactivity. Volume 6. London: Academic Press limited; 1991.

22. Sindambiwe JB, Calomme M, Cos P, Totté J, Pieters L, Vlietinck A, et al. Screening of seven selected Rwandan medicinal plants for antimicrobial and antiviral activities. J Ethnopharmacol 1999;65(1):71-7..

23. Sharifi A, Naghmachi M, Khosravani SAM. A study on antimicrobial effects of *Plantago psyllium*. Armaghan Danesh Res Sci J Yasuj Uni Med Sci 2011;62(1-4):191-199. (Full text in Persian)

24. McDonald LC. Trends in antimicrobial resistance in health care–associated pathogens and effect on treatment. Clin Infect Diseas 2006;42(Suppl 2):S65-71.

25. Paterson DL. The epidemiological profile of infections with multidrug resistant *Pseudomonas aeruginosa* and Acinetobacter species. Clinic Infect Diseas 2006;43(Suppl 2):S43–48.

26. Hughes JB, Silva VDA, Silva AR, Souza CDS, Silva AMM, Velozo EDS, et al. Cytotoxicity effect of alcaloidal extract from *Prosopis Juliflora* Sw. D.C.(Algaroba) pods on glial cells. Braz J Vet Res Anim Sci 2006;43(supl):50-8.

27. Monroy-Ortiz C, Castillo-España P. Plantas medicinales utilizadas en el estado de morelos, Centro de Investigaciones Biológicas. México: Universidad Autónoma del Estado de Morelos; 2000. (Text in Spanish)

28. Argueta A, Gallardo Vázquez MC. Atlas de las plantas de la medicina tradicional Mexicana. Instituto Nacional Indigenista: 1994. (Text in Spanish)

29. Nandkarni KM. Indian material medica, Volume I. Mumbai: Bombay Popular prakashan; 2000.

30. Bussmann RW, Glenn A, Sharon D. Antibacterial activity of medicinal plants of northern Peru- can traditional applications provides leads for modern science. Indian J Ttradit Knowl 2010;9(4):742-53.

31. Samoylenko V, Ashfaq MK, Jacob MR, Tekwani BL, Khan SI, Manly SP, et al. Indolizidine, antiinfective and antiparasitic compounds from Prosopis glandulosa var. glandulosa. J Nat Prod 2009;72(1):92-8.

32. Ahmad VU, Sultana A, Qazi S. Alkaloids from the leaves of *Prosopis juliflora*. J Nat Prod 1989;52(3):497-501.

33. Salinas Sánchez DO, Arteaga Najera GL, León Rivera I, Dorado Ramirez O, Valladares Cisneros MG, Navarro García VM. Antibacterial activity of medicinal plants from the Huautla Sierra biosphere reserve in morelos (Mexico). Poli Botanica 2009;28:213-25.

34. Amensour M, Bouhdid S, Fernández-López J, Idaomar M, Senhaji NS, Abrini J. Antibacterial activity of extracts of *Myrtus communis* against food-borne pathogenic and spoilage bacteria. Int J Food Properties 2010;13(6):1215-24.

35. Singh S, Swapnil, Verma SK. Antimicrobial properties of Alkaloid rich fractions obtained from various parts of *Prosopis juliflora*. Int J Pharma Sci Res 2011;2(3):114-20.

36. Rahbar M, Sabourian R, Saremi M, Abbasi M, Masumi Asl M, Soroush M. Study of epidemiology and antibiotic resistance of *Vibrio chlora*, biotype Eltor Serotype Inaba in Iranian epidemy of 2005 summer. Res Sci J Ardabil Univ Med Sci 2007;7(1):41-45. (Full text in Persian)