

Comparative Investigation of Antibacterial Properties of the Yarrow Plant Hydroalcoholic Extract and Phenol on a Group of Intestinal Bacteria in Vitro

Heydar Mousavi¹Zahra Molaei²Azim Akbar Zadeh Khiavi³Hajar Badri⁴Esmail Najafi⁵Saeed Parastar⁶Shahram Nazari⁶¹ BSc Student in Public Health, Student Research Committee, Khalkhal University of Medical Sciences, Khalkhal, Iran² BSc Student in Health Information Technology, Student Research Committee, Khalkhal University of Medical Sciences, Khalkhal, Iran³ Professional Doctorate in Laboratory Biochemistry, Department of Pilot Nanobiotechnology, Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran⁴ MSc in Environment Health Engineering, Khalkhal School of Medical Sciences, Khalkhal, Iran⁵ Instructure, Department of Public Health, Khalkhal School of Medical Sciences, Khalkhal, Iran⁶ Assistant Professor, Department of Environment Health Engineering, Khalkhal School of Medical Sciences, Khalkhal, Iran

(Received November 28, 2023; Accepted May 11, 2024)

Abstract

Background and purpose: Yarrow is a member of the Asteraceae family, utilized extensively in the field of medical sciences. Among the medicinal plants, one may encounter few specimens like the aforementioned plant, which enjoys widespread distribution across various regions of the globe and boasts a diverse array of uses that contribute to its renown. The aim of the present study was the synthesis of Yarrow extract evaluation of its antibacterial effects on a group of intestinal bacteria and comparing its antibacterial properties with phenol.

Materials and methods: In this experimental study, Yarrow plant extract was extracted with the hydroalcoholic method. The aerial parts of *Achillea ageratum* plant with herbarium number 1753 were prepared from the slopes of Ardabil mountains and after determining the identity, the extract of this plant was extracted by hydroalcoholic method. In this method, after preparing the plant and drying the aerial parts of the plant, 10 g of it was crushed in a sterile mortar, then it was poured into an Erlenmeyer flask, and 50 mL of 100% ethanol was added to it. After 24 hours of mixing in a magnetic stirrer using a Buchner funnel with Whatman filter paper and a vacuum pump, the remaining components of the plant were separated. Then, a certain amount of distilled water (20 ml) was added to the desired solution and placed again in the magnetic stirrer whose temperature was set at 80 degrees Celsius, so that the alcohol was completely removed from the reactor. The Antibacterial effect of yarrow extract was performed by disc diffusion method and micro broth dilution on standard species of Enterobacteriaceae families including the standard bacterial strains of *Klebsiella pneumoniae* (ATCC:10031), *Escherichia coli* (ATCC:23591), *Shigella dysentery* (ATCC:25922) and *Enterobacter aerogenes* (ATCC:13048). All experiments were performed according to the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) guidelines.

Results: In the present study, the growth rate of bacteria decreased by increasing the concentration of yarrow extract. The MIC of Yarrow plant extract for *Klebsiella pneumonia* and *Enterobacter aerogenes* was obtained in %6.25 and for *Shigella dysentery* and *Escherichia coli* was obtained in %12.5 and %25, respectively. Also, the MBC of extract for *Shigella dysentery*, *Klebsiella pneumonia*, and *Enterobacter aerogenes* bacteria was obtained in 25%, and for *Escherichia coli* it was obtained in 50%. The results of MIC and MBC show that the most sensitive bacteria to yarrow extract among the studied bacteria is *Enterobacter aerogenes* and the most resistant is *Escherichia coli*. The diameter of the inhibition zone for *Shigella dysentery*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, and *Enterobacter aerogenes* bacteria was obtained at 19, 18, 20, and 23 mm, respectively. In this experiment, *Enterobacter aerogenes* bacteria were the most sensitive and *Escherichia coli* was the most resistant among the investigated bacteria. Comparative investigation of the antibacterial properties of yarrow extract with phenol, showed that yarrow extract had a lower killing effect than phenol at 5, 10, and 15-minute contact time. In this test, the most resistant bacteria are *Shigella dysentery* and the most sensitive bacteria are *Escherichia coli* and *Enterobacter aerogenes*. The reason that the type of resistant and sensitive bacteria was slightly different in the method of comparing the antibacterial effect of yarrow extract with phenol with the results of MIC, MBC, and non-growth halo diameter is related to the reduction of contact time of the extract with bacteria.

Conclusion: The results of the present research show that the hydroalcoholic extract of the yarrow plant is very effective in the removal of gram-negative intestinal bacteria. Also, the hydroalcoholic extract of the yarrow plant is more effective in removing gram-negative bacteria than phenol

Keywords: Yarrow, Antibacterial effect, Hydroalcoholic Extract, Enterobacteriaceae, Phenol

J Mazandaran Univ Med Sci 2024; 34 (233): 225-232 (Persian).

Corresponding Author: Shahram Nazari - Khalkhal School of Medical Sciences, Khalkhal, Iran.
(E-mail: Shahrarnnazari73@yahoo.com)

بررسی مقایسه‌ای خصوصیات ضدباکتریایی عصاره هیدرو الکلی گیاه بومادران و فنل بر روی گروهی از باکتری‌های روده‌ای در محیط آزمایشگاهی

حیدر موسوی^۱
 زهرا مولائی^۲
 عظیم اکبرزاده خیای^۳
 هاجر بدری^۴
 اسماعیل نجفی^۵
 سعید پرستار^۶
 شهرام نظری^۶

چکیده

سابقه و هدف: بومادران یکی از گیاهان دارویی متعلق به خانواده آستراسه است که کاربرد زیادی در علوم پزشکی دارد. در بین گیاهان دارویی شاید کم‌تر گیاهی را بتوان همانند گیاه بومادران یافت که از نظر شهرت، گستره دسترسی در نواحی مختلف جهان و وسعت، کاربرد داشته باشد. هدف از مطالعه حاضر سنتز عصاره بومادران و بررسی اثرات ضد باکتریایی آن بر روی گروهی از باکتری‌های روده‌ای و مقایسه خواص ضد باکتریایی آن با فنل می‌باشد.

مواد و روش‌ها: این مطالعه به صورت تجربی در اردیبهشت سال ۱۴۰۲ در آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشکده علوم پزشکی خلخال انجام گردید. اندام‌های هوایی گیاه بومادران نانسی با شماره هر بار یوم ۱۷۵۳ از دامنه کوه‌های اردبیل تهیه و پس از تعیین هویت، عصاره این گیاه با روش هیدرو الکلی استخراج شد. در این روش پس از تهیه گیاه و خشک نمودن اندام‌های هوایی گیاه، مقدار ۱۰g از آن در یک هاون استریل خرد شد، سپس در ارلن ریخته شده و مقدار ۵۰mL اتانول ۱۰۰ درصد به آن اضافه گردید. پس از ۲۴ ساعت اختلاط در دستگاه همزن مغناطیسی با استفاده از قیف بوختر دارای کاغذ صافی واتمن و پمپ خلاء، اجزای باقیمانده گیاه جدا گردید. سپس مقدار معینی آب مقطر (۲۰ mL) به محلول مورد نظر اضافه و دوباره در دستگاه همزن مغناطیسی با دمای ۸۰ درجه سانتی گراد، قرار داده شد تا الکل به طور کامل از راکتور خارج شود. اثر ضد باکتریایی عصاره گیاه بومادران به روش انتشار دیسک و میکرو برات دایلوشن (micro broth dilution) بر روی گونه‌های استاندارد باکتری‌های خانواده/انتروباکتریاسه شامل سویه‌های باکتریایی *کلیدسیلا پنومونیه* (ATCC:10031)، *اشرشیاکلی* (ATCC: 23591)، *شیگلا دیسانتری* (ATCC:25922) و *انتروباکتر آئروژنز* (ATCC:13048) انجام شد. تمامی آزمایشات براساس دستور کارهای موسسه استانداردهای آزمایشگاهی و بالینی (Clinical and Laboratory Standards Institute: CLSI) انجام گردید.

یافته‌ها: در مطالعه حاضر با افزایش غلظت عصاره بومادران، میزان رشد باکتری‌ها کاهش یافت. مقدار حداقل غلظت بازدارندگی (Minimum Inhibitory Concentration: MIC) عصاره بومادران برای باکتری‌های *کلیدسیلا پنومونیه* و *انتروباکتر آئروژنز* برابر ۶/۲۵ درصد و برای باکتری‌های *شیگلا دیسانتری* و *اشرشیاکلی* به ترتیب برابر ۱۲/۵ و ۲۵ درصد به دست آمد. هم‌چنین مقدار حداقل غلظت کشندگی (Minimum Bactericidal Concentration: MBC) عصاره بومادران برای باکتری‌های *شیگلا دیسانتری*، *کلیدسیلا پنومونیه* و *انتروباکتر آئروژنز* برابر ۲۵ درصد و برای *اشرشیاکلی* برابر ۵۰ درصد به دست آمد. نتایج حاصل از MIC و MBC نشان می‌دهد که حساس‌ترین باکتری به عصاره بومادران در بین باکتری‌های مورد مطالعه *انتروباکتر آئروژنز* و مقاوم‌ترین آن *اشرشیاکلی* می‌باشد. قطر هاله عدم رشد برای باکتری‌های *شیگلا دیسانتری*، *اشرشیاکلی*، *کلیدسیلا پنومونیه* و *انتروباکتر آئروژنز* به ترتیب ۱۹، ۱۸، ۲۰ و ۲۳ میلی‌متر به دست آمد. این آزمایش نیز نشان داد که باکتری‌های *انتروباکتر آئروژنز* حساس‌ترین و *اشرشیاکلی* مقاوم‌ترین باکتری در بین باکتری‌های مورد بررسی می‌باشد. مقایسه خاصیت ضدباکتریایی عصاره بومادران با فنل، نشان داد که عصاره بومادران نسبت به فنل در زمان‌های ۵، ۱۰ و ۱۵ دقیقه زمان تماس در غلظت‌های پایین‌تر نیز اثر باکتری کشی داشت. در این آزمایش مقاوم‌ترین باکتری *شیگلا دیسانتری* و حساس‌ترین باکتری *اشرشیاکلی* و *انتروباکتر آئروژنز* می‌باشد. علت این که نوع باکتری مقاوم و حساس در روش مقایسه اثر ضدباکتریایی عصاره بومادران با فنل با نتایج حاصل از آزمایشات MIC، MBC و قطر هاله عدم رشد کمی متفاوت بود، احتمالاً مربوط به کاهش زمان تماس عصاره با باکتری می‌شود.

استنتاج: نتایج پژوهش کنونی نشان داد که عصاره هیدروالکلی گیاه بومادران در حذف باکتری‌های گرم منفی روده‌ای بسیار موثر است. هم‌چنین عصاره هیدروالکلی گیاه بومادران در حذف باکتری‌های گرم منفی نسبت به فنل موثرتر است.

واژه‌های کلیدی: بومادران، اثر ضدباکتریایی، عصاره هیدروالکلی، باکتری‌های روده‌ای، فنل

E-mail: Shahramnazari73@yahoo.com

مؤلف مسئول: شهرام نظری - اردبیل: خلخال، خیابان شهید مظفر عزیزی، دانشکده علوم پزشکی خلخال

۱. دانشجوی کارشناسی بهداشت عمومی، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده علوم پزشکی خلخال، خلخال، ایران

۲. دانشجوی کارشناسی مدیریت اطلاعات سلامت، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده علوم پزشکی خلخال، خلخال، ایران

۳. دکتری حرفه‌ای بیوشیمی آزمایشگاهی، گروه آزمایشی نانو بیوتکنولوژی، انستیتو پاستور ایران، تهران، ایران

۴. کارشناسی ارشد مهندسی بهداشت محیط، دانشکده علوم پزشکی خلخال، خلخال، ایران

۵. مربی، گروه بهداشت عمومی، دانشکده علوم پزشکی خلخال، خلخال، ایران

۶. استادیار، گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده علوم پزشکی خلخال، خلخال، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۹/۷ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۴۰۲/۱۰/۲۴ تاریخ تصویب: ۱۴۰۳/۲/۲۲

مقدمه

استفاده از گیاهان دارویی قدمتی همپای بشر داشته و برای مدت طولانی یکی از مهم‌ترین ابزارهای انسان برای غلبه بر بیماری‌های عفونی بوده است (۱). اخیراً به دلیل مقاومت و عوارض جانبی که میکروارگانیزم‌های بیماری‌زا در مواجهه با آنتی‌بیوتیک‌ها نشان می‌دهند، توجه زیادی به درمان پزشکی با اسانس‌ها، عصاره‌های گیاهی و ترکیبات باخواص بیولوژیکی شده است (۲، ۳). بومادران یکی از گیاهان دارویی متعلق به خانواده آستراسه است که برای درمان کرم‌های دستگاه گوارش، سردرد، تقویت عملکرد مغز، تب، گرفتگی بینی، درد معده، درد قفسه سینه، احتباس ادراری، احتباس خون قاعدگی، قطع خونریزی و... کاربرد دارد (۴-۶). امروزه گزارش‌های زیادی در مورد کاربرد فرآورده‌های تهیه شده از بومادران در درمان انواع مختلفی از بیماری‌ها و اختلالات وجود دارد اما متأسفانه علیرغم وجود سابقه تاریخی در استفاده از این گیاه در درمان زخم‌ها و جراحات، در حال حاضر گزارش‌های اندکی از کاربرد آن در این زمینه در دسترس است (۷، ۸). فلاونوئیدها مهم‌ترین ترکیباتی هستند که در گیاهان باعث اثر ضد میکروبی می‌شود (۹). خواص ضد میکروبی عصاره گیاه بومادران را به‌طور کلی می‌توان به حضور متابولیت‌های شیمیایی به‌خصوص در درجه اول فلاونوئیدها، در درجه دوم ترپن‌ها و در درجه سوم به ساپونین‌ها نسبت داد (۱۰، ۱۱).

اشرشیاکلی از پاتوژن‌های فرصت طلب بیمارستانی می‌باشد و به‌علت اکتساب پلاسمیدهایی که کدکننده بتا لاکتامازهای وسیع الطیف است، به آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام از جمله سفالوسپورین‌های وسیع‌الطیف مقاوم شده است (۱۲).

شیگلوز از عفونت‌های شایع دوران کودکی است. سالانه ۵ میلیون مورد مرگ و میر ناشی از گاستروآنتریت در کشورهای در حال توسعه رخ می‌دهد که دست کم ۱۰ درصد این موارد به دلیل دیسانتری ناشی از شیگلا است (۱۳، ۱۴). ایتروباکتر آئروژنز یک باکتری گرم منفی

است که به‌صورت فرصت طلب، در بروز عفونت‌های بیمارستانی نقش مهمی ایفا می‌کند (۱۵). در سال‌های اخیر گزارش‌های متعدد نشان می‌دهد سویه‌های ایتروباکتر آئروژنز علاوه بر بتالاکتام به کلاس‌های دیگر آنتی‌بیوتیک‌ها مانند سفتازیدیم و نورفلوکساسین نیز مقاوم شده‌اند (۱۶، ۱۷). کلبسیلا پنومونیه به خانواده ایتروباکتریاسیه تعلق دارد. عفونت‌های ناشی از کلبسیلا پنومونیه تولیدکننده کارباپنم‌از یک مشکل مهم در حال افزایش در سراسر جهان هستند (۱۸). باکتری‌های خانواده ایتروباکتریاسیه‌ها جزو عوامل ایجادکننده عفونت‌های بیمارستانی هستند (۱۹، ۲۰). با توجه به اهمیت باکتری‌های ذکر شده در بروز بیماری‌های گوارشی و پیشرفت مقاومت آن‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها و از طرف دیگر به دلیل سادگی استفاده، کم‌تر بودن عوارض، سادگی دسترسی و ارزان بودن گیاهان دارویی، تحقیقات در این زمینه ضروری می‌باشد. لذا مطالعه حاضر با هدف سنتز عصاره بومادران و بررسی اثرات ضد باکتریایی آن بر روی گروهی از باکتری‌های روده‌ای و مقایسه خواص ضد باکتریایی آن با فلن انجام شد.

مواد و روش‌ها

این مطالعه به صورت تجربی در اردیبهشت سال ۱۴۰۲ در آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشکده علوم پزشکی خلخال انجام شد.

تهیه گیاه

اندام‌های هوایی گیاه بومادران نانسی با شماره هرباریوم ۱۷۵۳ از دامنه کوه‌های اردبیل تهیه و پس از شناسایی استفاده گردید (تصویر شماره ۱-الف). تعیین هویت گیاه توسط ۳ نفر از متخصصین دانشگاه محقق اردبیلی در زمینه گیاه شناسی انجام شد.

تهیه عصاره گیاه بومادران

پس از تهیه گیاه و خشک نمودن اندام‌های هوایی

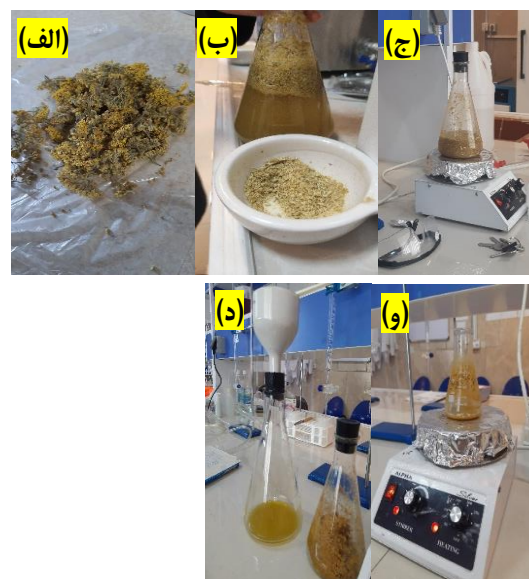
می‌باشد. تمامی سوش‌های باکتریایی خریداری شده، در محیط کشت نوترینت براث (Nutrient Broth) در شرایط هوایی و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس گرما گذاری شدند. سپس با لوپ استریل از محیط کشت نوترینت براث مقداری برداشته و بر روی محیط‌های کشت اختصاصی هر باکتری، به حالت خطی کشت داده شد. سپس پلیت‌های تلقیح شده در گرمخانه با دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شدند (۲۲، ۲۱). تمامی آزمایش‌ها برابر با دستورالعمل‌های موسسه استاندارد و آزمایشگاه پزشکی (Clinical and Laboratory Standards Institute: CLSI) انجام شد (۲۳).

ارزیابی فعالیت ضد باکتریایی عصاره گیاه بومادران
فعالیت ضدباکتریایی با استفاده از سه روش استاندارد مورد بررسی قرار گرفت.

تعیین حداقل غلظت بازدارندگی و حداقل غلظت کشندگی
آزمایشات حداقل غلظت بازدارندگی (MIC)، حداقل غلظت کشندگی (MBC) و روش دیسک آگار دیفیوژن (Zone of Inhibition: ZOI) با استفاده از روش رقیق‌سازی میکرو بر اساس روش توصیه شده توسط CLSI انجام گردید (۲۳).

مقایسه خواص ضد باکتریایی عصاره بومادران با فنل
به منظور مقایسه عصاره گیاه بومادران با فنل طبق روش MIC و MBC، غلظت‌های $\frac{1}{2}$ ، $\frac{1}{4}$ ، $\frac{1}{8}$ ، $\frac{1}{16}$ ، $\frac{1}{32}$ ، $\frac{1}{64}$ ، $\frac{1}{128}$ و $\frac{1}{256}$ عصاره بومادران تهیه و هم‌چنین فنل به صورت جداگانه با غلظت‌های مختلف (۲۰۰۰، ۱۰۰۰، ۵۰۰ و ۲۵۰ میلی گرم در لیتر) در لوله‌های آزمایش تهیه گردید. به هر کدام از چاهک‌ها تعداد معینی از باکتری‌های مورد آزمایش (CFU/ml) $10^4 \times 7/5$ اضافه شد. سپس در زمان‌های ۵، ۱۰ و ۱۵ دقیقه نمونه‌ای به اندازه ۱۰ میکرولیتر از هر یک چاهک برداشته شد و در محیط کشت نوترینت آگار کشت

گیاه مقدار ۱۰g از آن در یک هاون استریل خرد شد، سپس در یک ارلن ریخته شده و مقدار ۵۰mL اتانول ۱۰۰ درصد به آن اضافه گردید (تصویر شماره ۱-ب). به منظور استخراج کامل عصاره بومادران توسط الکل، ۲۴ ساعت در دستگاه همزن مغناطیسی اختلاط داده شد (تصویر شماره ۱-ج). سپس با استفاده از قیف بوختر دارای کاغذ صافی واتمن شماره ۴۲ و پمپ خلاء (مدل SparMax TC501V)، اجزای باقیمانده گیاه جدا گردید (تصویر شماره ۱-د). سپس مقدار معینی آب مقطر (۲۰ میلی لیتر) به محلول مورد نظر اضافه و دوباره در دستگاه همزن مغناطیسی با دمای ۸۰ درجه سانتی گراد قرار داده شد تا الکل به طور کامل از راکتور خارج شود. برای اطمینان از خارج شدن همه الکل افزوده شده، فرآیند تبخیر تا زمانی ادامه داده شد که حجم محلول ثابت گردد (تصویر شماره ۱-و).



تصویر شماره ۱: مراحل تهیه عصاره بومادران

سویه‌های باکتری

سویه‌های باکتری استفاده شده در پژوهش کنونی شامل سویه استاندارد کلبسیلا پنومونیه (ATCC:10031)، شرشیاکلی (ATCC:23591)، شیگلا دیسالتری (ATCC:25922)، اتروباکتر آئروژنسز (ATCC:13048)

داده شد و سپس در دستگاه انکوباتور به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس قرار داده شد. پس از ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد نمونه‌ها از نظر رشد تعداد باکتری‌ها مورد مقایسه قرار گرفتند.

یافته‌ها و بحث

تعیین حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC)

مقدار MIC عصاره بومادران برای باکتری‌های کلبسیلا پنومونیه و آنتروباکتر آئروژنز برابر ۶/۲۵ درصد و برای باکتری‌های شینگلا دیسانتری و اشرشیاکلی به ترتیب برابر ۱۲/۵ و ۲۵ درصد به دست آمد. هم‌چنین مقدار MBC عصاره گیاه بومادران برای باکتری‌های شینگلا دیسانتری و اشرشیاکلی به ترتیب برابر ۲۵ و ۵۰ درصد و برای باکتری‌های کلبسیلا پنومونیه و آنتروباکتر آئروژنز برابر ۲۵ درصد به دست آمد. در مطالعه حاضر با افزایش غلظت عصاره بومادران، میزان رشد باکتری‌ها کاهش یافت. نتایج حاصل از MIC و MBC نشان می‌دهد که حساس‌ترین باکتری به عصاره بومادران در بین باکتری‌های مورد مطالعه آنتروباکتر آئروژنز و مقاوم‌ترین آن اشرشیاکلی می‌باشد. هم‌چنین میزان حساسیت باکتری‌های کلبسیلا پنومونیه نسبت به شینگلا دیسانتری بیش‌تر بود. تفاوت بین حساسیت باکتری‌های متعلق به یک خانواده ممکن است به دلیل تفاوت در ساختارهای موجود در غشاء و یا آنزیم‌های تولیدی توسط باکتری باشد. نتایج حاصل از آزمایش هاله عدم رشد نیز با نتایج MIC و MBC مطابقت دارد.

تعیین قطر هاله عدم رشد

قطر هاله عدم رشد برای باکتری‌های شینگلا دیسانتری، اشرشیاکلی، کلبسیلا پنومونیه و آنتروباکتر آئروژنز به ترتیب ۱۹، ۱۸، ۲۰ و ۲۳ میلی‌متر اندازه‌گیری شد. در این آزمایش نیز باکتری‌های آنتروباکتر آئروژنز حساس‌ترین و اشرشیاکلی مقاوم‌ترین باکتری در بین

باکتری‌های مورد بررسی به دست آمد. در مطالعه‌ای که سلیمانی اصل و همکارانش در سال ۲۰۲۲ در کشور ایران انجام دادند، خواص ضدباکتریایی عصاره هیدروالکلی بومادران بر روی سالمونلاهای دارای ژن مقاوم به آنتی‌بیوتیک جدا شده از روده سگ اسهالی بررسی شدند. آن‌ها دریافتند که نه تنها بومادران خواص ضد باکتریایی بر روی باکتری سالمونلا جدا شده از روده سگ‌های اسهالی داشته و از رشد این باکتری جلوگیری می‌کند، بلکه وجود ژن‌های مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های آمینوگلیکوزیدی، اثر مهاري معنی‌داری بر روی اثربخشی این گیاه دارویی ندارد (۲۴).

نتایج مقایسه خواص ضد باکتریایی عصاره بومادران با فنل در مقایسه اثر ضد باکتریایی عصاره بومادران با فنل مشاهده شد که در ۵ دقیقه اول عصاره بومادران بر روی باکتری‌های شینگلا دیسانتری و کلبسیلا پنومونیه در غلظت ۵۰ درصد و بر روی آنتروباکتر آئروژنز و اشرشیاکلی در غلظت‌های ۲۵ درصد اثر کشندگی دارد در حالی که فنل با غلظت اولیه ۲۰۰۰ mg/l اثر ضدباکتریایی از خود نشان نداد. پس از گذشت ۱۰ دقیقه مشاهده شد عصاره بومادران بر روی باکتری‌های شینگلا دیسانتری در غلظت ۵۰ درصد و بر روی اشرشیاکلی، کلبسیلا پنومونیه و آنتروباکتر آئروژنز در غلظت ۲۵ درصد اثر کشندگی دارد، در حالی که در این مدت فنل در غلظت ۲۰۰۰ mg/l فقط روی باکتری شینگلا دیسانتری اثر کشندگی داشت. هم‌چنین پس از ۱۵ دقیقه گذشت زمان مشاهده شد عصاره بومادران بر روی باکتری‌های شینگلا دیسانتری و کلبسیلا پنومونیه در غلظت ۲۵ درصد و بر روی اشرشیاکلی و آنتروباکتر آئروژنز در غلظت ۱۲/۵ درصد اثر کشندگی دارد. در این مدت فنل در غلظت ۱۰۰۰ mg/l بر روی باکتری شینگلا دیسانتری و در غلظت ۲۰۰۰ mg/l بر روی بقیه باکتری‌ها اثر کشندگی داشت. بنابراین عصاره بومادران در زمان کم‌تری نسبت به فنل اثر کشندگی دارد.

مقایسه خاصیت ضد باکتریایی هر ماده با فنل به عنوان شاخصی برای تعیین میزان اثربخشی آن بر علیه باکتری‌ها معرفی شده است. که در مورد عصاره‌های گیاهی هم توجه به این امر ضروری است. به همین دلیل در مطالعه حاضر شاخص مذکور نیز بررسی و مقایسه گردید. در این آزمایش مقاوم‌ترین باکتری شیگلا دیسانتری و حساس‌ترین باکتری /شرشیاکلی و /نتروباکتر آئروژنز می‌باشد. علت این که نوع باکتری مقاوم و حساس در روش مقایسه اثر ضدباکتریایی عصاره بومادران با فنل با نتایج حاصل از آزمایشات MIC، MBC و قطر هاله عدم رشد کمی متفاوت بود به کاهش زمان تماس عصاره با باکتری مربوط می‌شود.

عصاره گیاه بومادران اثرات ضد باکتریایی خود را از طریق تغییر ساختار و عمل غشای سلولی و با افزایش نفوذ پذیری آن اعمال می‌کند که باعث تورم سلول و در نهایت باعث مرگ سلولی می‌شود (۲۵).

در مطالعه‌ای دیگری که بیات و همکارانش، از اسانس گیاه بومادران (عامل ضدباکتریایی) بر روی تعدادی از باکتری‌های عامل پوسیدگی دندان از جمله /ستریتوکوک

موتانس و لاکتوباسیل‌ها استفاده کردند، مشخص گردید با توجه به تاثیر ضد باکتریایی گیاه بومادران روی این باکتری‌های فلور طبیعی حفره‌های دهانی، می‌توان در دندانپزشکی از اسانس این گیاه به‌عنوان دهانشویه و شستشوی لثه استفاده کرد (۲۶). مطالعه حاضر نیز نشان داد که عصاره گیاه بومادران خاصیت باکتری‌کشی و باکتریواستاتیکی بالایی بر روی باکتری‌های مورد مطالعه دارد.

سپاسگزاری

بدینوسیله از کمیته تحقیقات و فناوری دانشجویی دانشکده علوم پزشکی خلخال به دلیل حمایت‌های مالی، صمیمانه تقدیر و تشکر می‌نمایم. این طرح تحقیقاتی دارای کد اخلاق در پژوهش به شماره: IR.KHALUMS.REC.1402.005 و کد طرح پژوهشی به شماره IR-KHS-1402-02-58 می‌باشد. از زحمات جناب آقای اسماعیل نجفی مدیر محترم کمیته تحقیقات دانشجویی تشکر می‌گردد.

References

1. Xu D-P, Li Y, Meng X, Zhou T, Zhou Y, Zheng J, et al. Natural antioxidants in foods and medicinal plants: Extraction, assessment and resources. *Int J Mol Sci* 2017; 18(1): 96.
2. Aqil F, Zahin M, Ahmad I, Owais M, Khan MSA, Bansal SS, et al. Antifungal activity of medicinal plant extracts and phytochemicals: a review. *Combating Fungal Infections* 2010; 449-484.
3. Amenu D. Antimicrobial activity of medicinal plant extracts and their synergistic effect on some selected pathogens. *A J Ethno* 2014; 1(1): 18-29.
4. Zakeri S, Gorji N, Moeini R, Memariani Z. Therapeutic application of *Achillea millefolium* L. in female reproductive diseases from the viewpoint of Persian medicine and current medicine. *J Med Plants* 2019; 18(72): 107-121 (Persian).
5. Hekmati S, Ghasemian SO, Mahmoodipour H. Comparison of antibacterial and synergistic effects of some medicinal plants against the zoonotic bacterium (*Aeromonas hydrophila*). *New Findings in Veterinary Microbiology* 2023; 6(1): 1-12.
6. Modaresi M, Dadkhah D. The Effects of Yarrow's (*Achillea millefolium*) Hydroalcoholic Extract on Blood Proteins in Mice. *Nature Environment and Pollution Technology* 2013; 12(2): 281-284.

7. Vasinauskiene M, Radusiene J, Zitikaite I, Surviliene E. Antibacterial activities of essential oils from aromatic and medicinal plants against growth of phytopathogenic bacteria. *Agron Res* 2006; 4: 437-440.
8. Yousefi Kopaei F. Investigation of antimicrobial effect of aqueous extract of yarrow and pomegranate peel on some pathogenic bacteria of agricultural crops. *Technology of Medicinal and Aromatic Plants of Iran* 2021; 3(2): 72-84.
9. Nguta JM, Appiah-Opong R, Nyarko AK, Yeboah-Manu D, Addo PG, Otchere I, et al. Antimycobacterial and cytotoxic activity of selected medicinal plant extracts. *J Ethnopharmacol* 2016; 182: 10-15.
10. Rakmai J, Cheirsilp B, Torrado-Agrasar A, Simal-Gándara J, Mejuto JC. Encapsulation of yarrow essential oil in hydroxypropyl-beta-cyclodextrin: physiochemical characterization and evaluation of bio-efficacies. *CyTA-Journal of Food* 2017; 15(3): 409-417.
11. Mekinić IG, Skroza D, Ljubenković I, Krstulović L, Možina SS, Katalinić V. Phenolic acids profile, antioxidant and antibacterial activity of chamomile, common yarrow and immortelle (Asteraceae). *Nat Prod Commu* 2014; 9(12): 1745-1748.
12. Bonyadian M, Barati S, Habibian R, Jostojuo T. Investigation the antibiotic resistance of the *Escherichia coli* isolated from gastroenteritis cases in Shahrekord county. *J Shahrekord Univ Med Sci* 2014; 15(6): 117-123 (Persian).
13. Jayakrishnan MP, Geeta MG, Krishnakumar P, Gireeshan V, George B, Prathiksha P, et al. Factors associated with mortality in toxic encephalopathy due to shigellosis in children. *Indian Pediatrics* 2020; 57: 1029-1032.
14. Kotloff KL, Riddle MS, Platts-Mills JA, Pavlinac P, Zaidi AK. Shigellosis. *Lancet* 2018; 391(10122): 801-812.
15. Morrill HJ, Pogue JM, Kaye KS, LaPlante KL. Treatment options for carbapenem-resistant Enterobacteriaceae infections. *Open Forum Infect Dis* 2015; 2(2): ofv050.
16. Sarbooz Hossain Abadi T, Beyzaei H, Hashmi S-H, Ghasemi B, Smaili A. Study of the inhibitory effects of n-heterocycles, magnesium oxide nanoparticles, nisin and poly-L-lysine on *Enterobacter aerogenes* (hospital pathogen). *Razi Journal of Medical Sciences* 2019; 26(7): 57-65 (Persian).
17. Ramirez D, Giron M. *Enterobacter infections. Study Guide from StatPearls Publishing, Treasure Island (FL)*, 2020.
18. Paterson DL, Bonomo RA. Extended-spectrum β -lactamases: a clinical update. *Clin Microbiol Rev* 2005; 18(4): 657-686.
19. Adams-Sapper S, Nolen S, Donzelli GF, Lal M, Chen K, Justo da Silva LH, et al. Rapid induction of high-level carbapenem resistance in heteroresistant KPC-producing *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother* 2015; 59(6): 3281-3289.
20. Karabinis A, Paramythiotou E, Mylona-Petropoulou D, Kalogeromitros A, Katsarelis N, Kontopidou F, et al. Colistin for *Klebsiella pneumoniae*—associated sepsis. *Clin Infect Dis* 2004; 38(1): e7-e9.
21. Rastegar A, Nazari S, Allahabadi A, Falanji F, Dourbash FADA, Rezai Z, et al. Antibacterial activity of amino- and amido-terminated poly (amidoamine)-G6 dendrimer on isolated bacteria from clinical specimens and standard strains. *Med J Islam Repub Iran* 2017; 31: 64 (Persian).
22. Gholami M, Nazari S, Farzadkia M, Mohseni SM, Matboo SA, Dourbash FA, et al. Nano polyamidoamine-G7 dendrimer synthesis and assessment the antibacterial effect in vitro.

- Tehran Univ Med J 2016; 74(1): 25-35 (Persian).
23. Humphries RM, Ambler J, Mitchell SL, Castanheira M, Dingle T, Hindler JA, et al. CLSI methods development and standardization working group best practices for evaluation of antimicrobial susceptibility tests. J Clin Microbiol 2018; 56(4): e01934-01917.
24. Solyemani Asl A, Karimi-Dehkordi M. Evaluation of Antibacterial Effects of Yarrow Hydroalcoholic Extract on Salmonella with Aminoglycoside Resistance Gene Isolated from Dogs with diarrhea. Journal of Comparative Pathobiology 2022; 18(4): 3705-3716 (Persian).
25. Verma RS, Joshi N, Padalia RC, Goswami P, Singh VR, Chauhan A, et al. Chemical composition and allelopathic, antibacterial, antifungal and in vitro acetylcholinesterase inhibitory activities of yarrow (*Achillea millefolium* L.) native to India. Industrial Crops and Products 2017; 104: 144-155.
26. Bayat H, Shafie F, Aminifard MH, Daghighi S. Comparative effects of humic and fulvic acids as biostimulants on growth, antioxidant activity and nutrient content of yarrow (*Achillea millefolium* L.). Sci Hortic 2021; 279: 109912.