

## بررسی اثر عصاره متانولی پوست تازه پسته (*Pistacia atlantica*) بر رشد استافیلوکوکوس اورئوس، استرپتوکوکوس پایونز و باسیلوس سرئوس جداشده از نمونه‌های بالینی در شرایط آزمایشگاهی

مجید صادق‌پور<sup>۱\*</sup>، فاطمه نوربخش<sup>۲</sup>

تاریخ دریافت ۱۳۹۴/۰۵/۲۹ تاریخ پذیرش ۱۳۹۴/۰۷/۲۶

### چکیده

**پیش‌زمینه و هدف:** امروزه باوجود برخی اثرات جانبی نامطلوب داروهای مصنوعی، استفاده از داروهای گیاهی به‌عنوان درمان کاربرد گسترده‌ای یافته است. عصاره هیدروالکلی پوست تازه پسته بر روی باکتری‌های مورد بررسی مؤثر بوده که در عفونت‌های موضعی بیشتر استفاده می‌شود. هدف تحقیق، بررسی اثرات ضد باکتریایی عصاره هیدروالکلی (متانولی) تهیه شده از پوست تازه پسته بر روی باکتری‌های گرم مثبت (*استافیلوکوک اورئوس*، *استرپتوکوک پیوژن*، *باسیلوس سرئوس*) جدا شده از نمونه‌های بالینی است.

**مواد و روش کار:** باکتری‌های مورد نظر در نمونه‌های بالینی از آزمایشگاه‌های تشخیص طبی ایزوله شدند و پس از جمع‌آوری و به آزمایشگاه تحقیقاتی منتقل شد. تعلیقی از باکتری‌های ذکر شده تهیه شد که معادل نیم استاندارد م‌ک‌فارلند بود و پس از کشت مجدد به‌منظور غربال کردن فعالیت ضد میکروبی عصاره، از روش چاهک، انتشار دیسکی، ماکرودایلوژن و میکرودایلوژن استفاده گردید تا جهت تعیین حداقل غلظت (رقت) مهارکننده و کشنده (*MIC* و *MBC*) در شرایط *in vitro* مورد ارزیابی قرار گیرند.

**یافته‌ها:** این عصاره با اثرگذاری بر روی *استرپتوکوک پیوژن* نسبت به باکتری‌های دیگر و در مقایسه با آنتی‌بیوتیک‌های آمیکاسین؛ کلیندامایسین؛ سفیکسیم بیشترین تأثیر را داشت. با توجه به اندازه قطر هاله عدم رشد، به ترتیب حساسیت: *استرپتوکوک پیوژن*، *استافیلوکوک اورئوس* و *باسیلوس سرئوس* بیشترین تأثیر را دارد. نتایج *MIC* عصاره بر روی باکتری‌های مورد نظر در روش ماکرودایلوژن معادل  $16/1 \mu\text{l/ml}$  و میزان *MBC* آن  $32/2 \mu\text{l/ml}$  گزارش شد. **بحث:** این عصاره بر روی باکتری‌های ذکر شده کاملاً مؤثر بوده و توصیه می‌شود این ترکیبات گیاهی علاوه بر تسریع بهبود عفونت‌های باکتریایی سطحی پوست، بخصوص در سوختگی‌ها و مسمومیت‌های غذایی ناشی از باسیلوس سرئوس به‌عنوان نگه‌دارنده طبیعی مواد غذایی می‌تواند بیشتر استفاده گردد. **واژگان کلیدی:** پوست پسته (*Pistacia atlantica*)، *استافیلوکوک اورئوس*، *استرپتوکوک پیوژن*، *باسیلوس سرئوس*، اثرات ضد میکروبی

مجله پزشکی ارومیه، دوره بیست و ششم، شماره نهم، ص ۸۲۳-۸۱۳، آذر ۱۳۹۴

آدرس مکاتبه: تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، دانشکده علوم زیستی، واحد علوم و تحقیقات تهران، تلفن: ۰۹۱۲۷۱۶۰۲۸۱

Email: majid\_sadeghpour@yahoo.com

### مقدمه

داروهای گیاهی، تلاش‌های زیادی در راه توسعه آن‌ها انجام می‌شود. ولی باید این مطلب را به خاطر داشت که مواد مصنوعی به‌کاررفته در تهیه داروها غالباً یک معادل گیاهی دارند که می‌توان از آن گیاه دارویی استخراج نمود. در درمان بیماری‌های باکتریایی با توجه به عامل آن و انتشار جغرافیایی توجه خاص برای از بین بردن پاتوژن‌ها توسط گیاهان خاص و بومی مناطق بهره می‌گرفتند (۳، ۵). به همین دلیل در این تحقیق بر آن شدیم تا با توجه به مصارف پوست پسته در طب سنتی به‌عنوان درمان جهت بر طرف نمودن ضایعات عفونی جلدی ناشی از عفونت‌های میکروبی مقیم

از زمان‌های دور انسان به بیماری‌های مختلف که مبتلا می‌شد، همواره به معالجه آن‌ها می‌اندیشید و در این راه از ترکیبات گوناگونی به‌خصوص گیاهان مختلف استفاده می‌کرد. هرچند این مسئله زمینه‌ای برای پی بردن به خواص مختلف گیاهان شد، اما با گذشت زمان و افزایش اطلاعات بشر به تدریج داروهای مصنوعی جایگزین داروهای گیاهی شدند. امروزه باوجود برخی اثرات جانبی نامطلوب داروهای مصنوعی، به دلیل اثر سریع‌تر و کامل‌تر آن‌ها بر روی بیماری‌ها نسبت به

<sup>۱</sup> کارشناس ارشد میکروبیولوژی، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم زیستی، واحد علوم و تحقیقات تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران (نویسنده مسئول)

<sup>۲</sup> استادیار میکروبیولوژی، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم زیستی، واحد ورامین - پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین - پیشوا، ایران

حالت‌های گوناگونی مانند: آکنه‌ها، کورک و کفگیرک، فولیکولیت‌ها، زرد زخم، پنومونی، اندوکاردیت، آرتروز چرکی، عفونت‌های سوختگی، انتریت حاد، مسمومیت غذایی، سندرم فلسی شدن پوست، سندرم شوک سمی می‌باشند (۴).

استرپتوکوک‌ها گروه بزرگی از کوسه‌های گرم مثبت هستند که بیماری‌های حاصل از این دسته باکتری‌ها شامل: فارنژیت، تب مملک، پیودرم، اریزیپلاس، فاسیت نکروز دهنده، سندرم توکسیک استرپتوکوکی، تب روماتیسمی حاد و ناراحتی قلبی و غیره است (۵ و ۶).

جنس باسیلوس از باکتری‌های اسپورزا - هوازی یا بی‌هوازی اختیاری گرم مثبت میله‌ای شکل بوده و پنج گونه از این جنس به‌عنوان عامل مسمومیت غذایی شناخته می‌شود ولی باکتری باسیلوس سرئوس عامل اپیدمی‌های گاستروانتریت است. در جهت تشخیص این باکتری از تست‌های بیوشیمیایی می‌توان بهره برد که مهم‌ترین آن‌ها شامل: رشد در محیط کشت حاوی مانیتول-زرد تخم مرغ و پلی میکسین است و کلنی‌های آن بصورت تپیک رشد می‌کنند. وجود باسیلوس سرئوس در مدفوع بیمار ارزش تشخیصی ندارد زیرا این باکتری‌ها اغلب در مدفوع افراد طبیعی وجود دارد ولی تعداد بالای  $10^5$  یا بیشتر باکتری باسیلوس سرئوس در هر گرم مدفوع از نظر تشخیصی با ارزش است (۷).

در این تحقیق که پژوهشی از اثرات ضد باکتریایی عصاره هیدروالکلی (متانولی) تهیه شده از پوست تازه پسته بر روی باکتری‌های گرم مثبت (استافیلوکوک اورئوس، استرپتوکوک پایونز، باسیلوس سرئوس) که جدا شده از نمونه‌های بالینی بوده برای تعیین حداقل غلظت (رقت) مهارکننده و کشنده ( $MIC^{23}$  و  $MBC^{23}$ ) عصاره مورد بررسی و مطالعه قرار گرفت. مطالعه بر روی شایع‌ترین عوامل عفونت‌زای پوستی با ضایعات نظیر جوش و ضایعات سطحی به همراه عامل مسمومیت‌زای غذایی بوده که توانسته‌اند در برابر آنتی‌بیوتیک‌های موجود مقاومت کسب نمایند صورت پذیرفت.

### مواد و روش کار

این گیاه پسته از منطقه دامغان تهیه شد و پس از جمع‌آوری پوست تازه پسته و خشک کردن آن‌ها در سایه و محلی خنک و بدور از نور خورشید عصاره گیری انجام شد. بدنبال آنالیز پوست پسته با روش کروماتوگرافی ترکیبات شیمیایی موثری که بر روی میکروارگانیزم‌های مختلف اثر گذارند، به‌دست آمد که شامل: الفا

در سطح پوست استفاده کنیم. در این بررسی خواص ضد میکروبی را مطالعه کرده تا در صورت اثبات این خواص بتوان این گیاه دارویی را به‌عنوان داروی جایگزین یا معادل داروی مصنوعی استفاده نماییم.

پسته درختی است دو پایه که ارتفاع آن در مناطق حاره به بیش از ۱۰ متر می‌رسد، اما در نواحی معتدله با ارتفاع کم‌تر و گاهی به‌صورت درختچه است. پوست میوه پسته در ابتدا سبز، قرمز و نقطه‌دار است و به‌تدریج که میوه درشت‌تر می‌شود پوست هم تغییر رنگ می‌دهد. این گیاه دارای گونه‌های مختلفی بوده که یکی از گونه‌های مهم تیره پسته در ایران می‌روید، درخت پسته با نام علمی *Pistacia atlantica* از گیاهان تیره آناکاردیاسه یا تیره پسته است (۱۹). تنها پسته ایران است که از نظر شکل، رنگ، ظاهر، اندازه و ابعاد و همچنین مشخصات مغز آن ارقام بسیار متنوعی دارد. میزان ترکیبات فنلی در گونه‌های مختلف پسته ایرانی متفاوت بوده و بین  $15/3$  تا  $31/1$  میلی‌گرم فنل بر گرم ماده خشک می‌باشد که به ترتیب مربوط به رقم‌های پسته کله قوچی و پسته آقایی است ولی سایر رقم‌ها مثل: پسته فندقی:  $15/6$ ، پسته فروتنی:  $18/3$  میلی‌گرم فنل بر گرم نمونه خشک است (۱۹).

پریتدل و رایت<sup>۱</sup> گزارش کردند که اثر ترکیبات فنولیک وابسته به غلظت می‌باشد. در غلظت‌های پایین، ترکیبات فنولیک بر فعالیت آنزیم‌هایی که در ارتباط با تولید انرژی هستند اثر می‌گذارند، در صورتی که در غلظت‌های بالاتر، ترکیبات فنولیک باعث غیرطبیعی شدن پروتئین‌ها می‌شوند. اثر ترکیبات فنولیک بر رشد میکروب‌ها و تولید سم آفلاتوکسین می‌تواند در نتیجه قابلیت و اثرگذاری ترکیبات فنولیک در تغییرپذیری دیواره سلولی و خروج ماکرومولکول‌ها از درون سلول نیز مؤثر باشد. همچنین این ترکیبات می‌توانند با پروتئین‌های غشاء واکنش داده و باعث تغییر شکل این پروتئین‌ها و به دنبال آن تغییر در عملکرد آن‌ها شود (۱۳).

باکتری‌های گرم مثبت به تعداد زیاد بر روی پوست و سطوح مخاطی به‌صورت کوسه‌ای و باسیل دیده می‌شوند. متداول‌ترین آن‌ها استرپتوکوک‌ها، استافیلوکوک‌ها، پنوموکوک‌ها و باسیلوس‌ها می‌باشند و این دسته از باکتری‌ها مولد عفونت‌های حاد و چرک‌زا هستند. استافیلوکوک‌ها نمونه کامل و بارزی از کوسه‌های چرک‌زا (پیوژنیک) می‌باشند. عفونت با این باکتری‌ها تقریباً همیشه با تجمع مقدار زیادی چرک همراه است و درواقع استافیلوکوک‌ها مسئول بیش از ۸۰ درصد عفونت‌های چرکی بوده و قادر به ایجاد

<sup>3</sup> Minimum bactericidal concentration

<sup>1</sup>Prindle and Wright

<sup>2</sup> Minimum inhibitory concentration

عصاره را صاف کرد. به کمک دستگاه روتاری با مارک (IKA) حلال مورد استفاده یعنی متانول را از عصاره جداسازی نموده و پس از تغلیظ عصاره، جهت انجام آزمایش آنرا داخل یخچال نگهداری نمودند (۵).

با جمع‌آوری ۱۲۱ مورد از نمونه‌های بالینی آزمایشگاه‌های تشخیص طبی و با در نظر گرفتن شرایط استاندارد نمونه‌برداری، در مدت زمان شش ماه، باکتری‌های مورد نظر را از نمونه‌های عفونی بالینی که در جدول زیر ۲-۱ آمده از بیماران جداسازی کردند.

پینن<sup>۱</sup> - بتا پینن<sup>۲</sup> - میرسن<sup>۳</sup> - ۱ و ۸-سینئول<sup>۴</sup> - بتا تاژن<sup>۵</sup> و مواد فنلی و سایر ترکیبات گیاهی موجود در آن یافت شد (۱۱، ۵، ۳).  
تهیه عصاره متانولی:

عصاره‌گیری به روش ماسیراسیون (خیساندن<sup>۶</sup>) صورت گرفت، به این ترتیب که پس از جمع‌آوری پوسته تازه پسته آن‌ها را در مکانی به‌دور از نور خورشید و در سایه محلی که جریان ملایم هوا در گذر بوده برای مدت ۷۲-۴۸ ساعت خشک کرده و سپس مقدارمعینی را با ترازو وزن کرده که ۱۵ گرم از پوست خشک شده را نیمه خرد نموده و در ۱۵۰ سی سی متانول ۸۰ درصد بمدت ۷۲ ساعت در مکان تاریکی خیسانده و در نهایت با کاغذ صافی محلول

جدول ۲-۱ باکتری‌های جدا شده از نمونه‌های بالینی جمع‌آوری شده

فرم اسهالی در مسمومیت غذایی	زخم‌های ناشی از سوختگی	گلو درد چرکی	عفونت ادراری
-	+ (۲۳ مورد)	-	+ (۲۷ مورد)
-	+ (۱۵ مورد)	+ (۳۵ مورد)	-
+ (۲۱ مورد)	-	-	-

نظیر: بلادآگار، مانیتول سالت آگار، برد پارکر آگار، لسیتین آگار ذکرشده کشت داده و به بررسی کلنی‌های حاصله پرداخته شد (۶).  
در خصوص افتراق باکتری‌ها از خواص بیوشیمیایی آن‌ها جهت تأیید به‌صورت زیر استفاده شد:

باکتری‌های به‌دست‌آمده جهت خالص‌سازی و برای تعیین و شناسایی جنس و گونه باکتری‌ها از روش‌های افتراقی و محیط‌های کشت که از شرکت مرک - آلمان (Merck-Germany) خریداری و استفاده نمود. در جدول ۲-۲ که برخی از محیط‌های عمومی

جدول ۲-۲: تست‌های افتراقی باکتری‌های جدا شده از نمونه‌های بالینی جمع‌آوری شده

تست‌ها	کاتالاز	کوآگولاز	DNase	محیط مانیتول سالت آگار	کوکسی			
استافیلوکوک اورئوس	+	+	+	+	گرم مثبت			
تست‌ها	باسیترا سین	همولیز بتا	کاتالاز	اکسیداز	CAMP	تست PYR	کوکسی	دارای آنتی ژن
استرپتوکوک پایوژنز	+	+	-	-	+	+	گرم مثبت	گروه A
تست‌ها	رشدی هوازی	احیاء نترات	همولیز بتا	لیسیتین	باسیل اسپوردار	گرم مثبت		
باسیلوس سرئوس	+	+	+	+	+	+		

میزان کدورت حاصله ارزیابی گردید. در کلیه مراحل همراه با کنترل مثبت و منفی از سویه استاندارد تهیه شده از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران باکتری‌ها شامل: باسیلوس سرئوس (PTCC<sup>۷</sup> 1015) و استرپتوکوک پیوژن (PTCC 1447)

تهیه سوسپانسیون‌های میکروبی استاندارد:

برای بررسی میزان حداقل غلظت (رقت) مهارکننده از محیط مولر هینتون آگار، مولر هینتون برات و برین هارت اینفیوژن برات (BHI) استفاده شد (۱۶، ۹، ۱۲) که در روش لوله‌ای (ماکروداپلوشن)

<sup>۵</sup> β-Thujene

<sup>۶</sup> Maceration

<sup>۷</sup> Persian Type Culture Collection

<sup>۱</sup> α-pinene

<sup>۲</sup> β-pinene

<sup>۳</sup> Myrcene

<sup>۴</sup> 1,8-cineole

دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی استرپتوکوک پایوژنز: کلیندامایسین، آزیترومایسین<sup>۸</sup>، آمیکاسین، متی‌سیلین<sup>۹</sup>، سفکسیم، ونکومایسین. در پایان پلیت‌ها در گرمخانه با دمای ۳۷ درجه به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفتند. پس از اتمام گرمخانه گذاری قطر نواحی بازدارنده از رشد بر حسب میلی متر اندازه گیری شد. انجام این آزمایش مکرراً صورت گرفته و برای ۳ مرتبه متوالی آنرا تکرار نمودیم و میانگین و انحراف معیار آن‌ها محاسبه و بصورت نمودار نشان داده شد. این محاسبات با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۹ انجام گرفت.

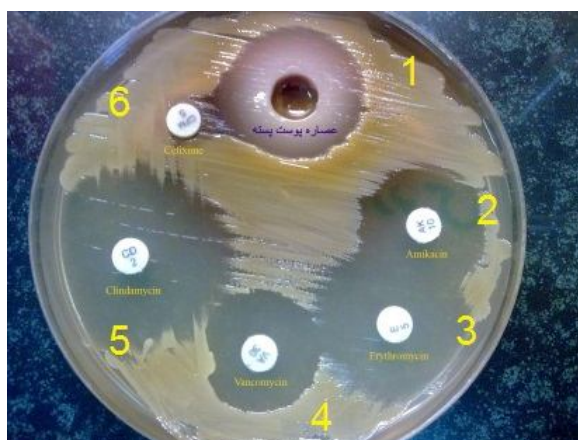
### یافته‌ها

در این مطالعه از جدایه باکتری‌های به دست آمده از ۱۲۱ مورد بالینی جهت مقایسه قدرت اثرگذاری دیسک آنتی‌بیوتیکی با عصاره گیاهی اقدام گردیده تا اثر ضد میکروبی غلظت تام عصاره‌ای که در تصویر ۱ به وضوح قابل رویت بوده و می‌تواند عامل ممانعت از رشد باکتری استافیلوکوک اورئوس در مقایسه با دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی تجاری شود را نشان دهد. تصویر ۲ به بررسی ممانعت از رشد باکتری استرپتوکوک پیوژن توسط عصاره پوست پسته در مقایسه با دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی تجاری را نشان می‌دهد. تصویر ۳ به بررسی ممانعت از رشد باکتری باسیلوس سرئوس توسط عصاره پوست پسته در مقایسه با دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی تجاری را نشان می‌دهد.

و استافیلوکوک اورئوس (PTCC 1112) انجام شده و برای تمام نمونه‌ها از غلظت معادل نیم مک فارلند ( $10^8 \times 1/5$ ) جهت انجام آزمایشات مورد استفاده قرار گرفت (۹ و ۱۶).

در روش انتشار دیسکی به منظور غربالگری فعالیت ضد میکروبی عصاره، در ابتدای استفاده از این عصاره به روش مذکور میزان ۱۵ میکرولیتر عصاره بر روی دیسک بلانک ۶ میلی متری قرار داده و پس از جذب کامل، آنرا روی محیط کشت آماده سازی شده قرار داده می‌شود که بر اساس روش بیان شده توسط چاکرابورتی و میترا با اندکی تغییر صورت پذیرفته است (۲۰، ۲۰). پس از تهیه سوسپانسیون و کشت بر روی محیط بلاد آگار برای استرپتوکوک پیوژن و محیط مولر هینتون آگار برای استافیلوکوک اورئوس و باسیلوس سرئوس استفاده شد و با قرار دادن دیسک آغشته به عصاره در مقایسه با سایر دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی تجاری مورد ارزیابی قرار گرفت. دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی صورت تجاری و از شرکت، های‌مدیا (Hi media- India) تهیه و خریداری شد. اساس انتخاب دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی زیر به پیشنهاد و دستورالعمل مندرج در راهنمای عملکرد موسسه استاندارد آزمایشگاهی و بالینی<sup>۱</sup> می‌باشد (۱۶، ۱۲).

دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی استافیلوکوک اورئوس: کلیندامایسین<sup>۲</sup>، اریترومایسین<sup>۳</sup>، آمیکاسین<sup>۴</sup>، ونکومایسین<sup>۵</sup>، سفکسیم<sup>۶</sup>. دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی باسیلوس سرئوس: کلیندامایسین، اریترومایسین، آمیکاسین، آمپی‌سیلین<sup>۷</sup>، سفکسیم.



<sup>6</sup> Cefexime

<sup>7</sup> Ampicillin

<sup>8</sup> Azithromycin

<sup>9</sup> Methicillin

<sup>1</sup> Clinical and Laboratory Standards Institute

<sup>2</sup> Clindamycin

<sup>3</sup> Erythromycin

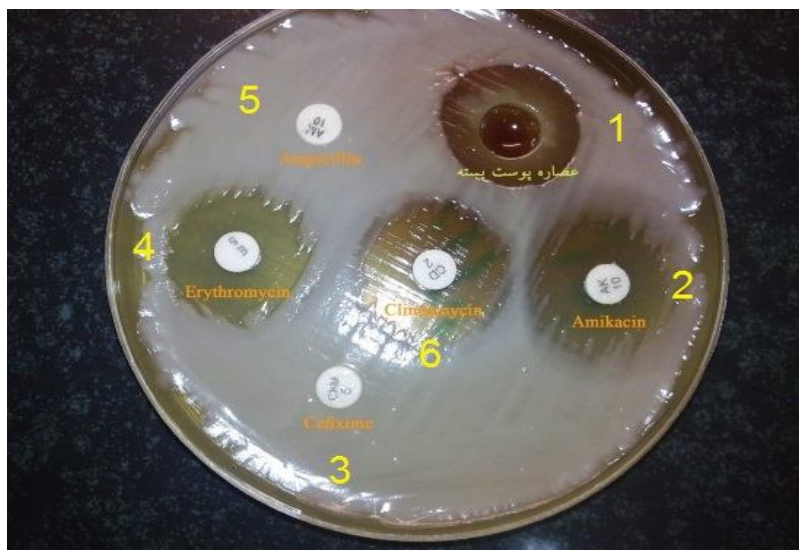
<sup>4</sup> Amikacin

<sup>5</sup> Vancomycin

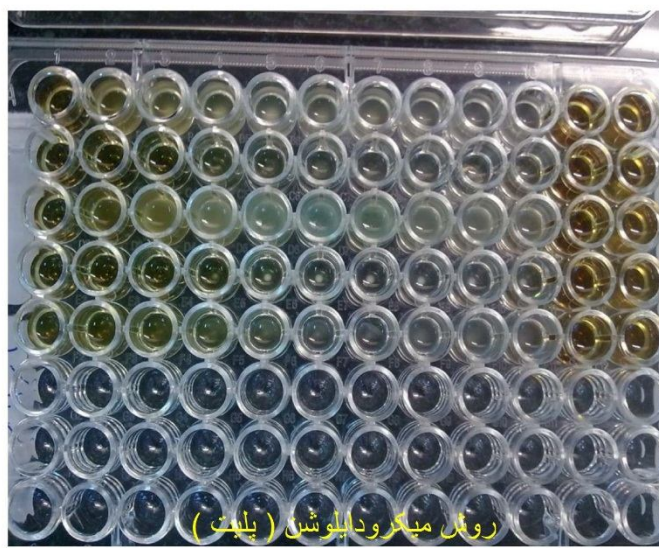
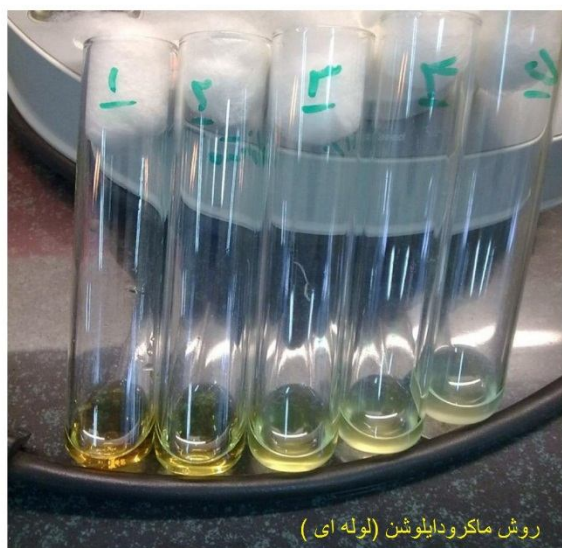
**تصویر (۱):** مقایسه ممانعت از رشد عصاره پوست پسته با آنتی‌بیوتیک‌ها برای استافیلوکوک اورئوس در محیط کشت مولر هینتون آگار شماره ۱: چاهک عصاره - شماره ۲: آمیکاسین - شماره ۳: اریترومايسين - شماره ۴: ونکومايسين - شماره ۵: کلیندامایسین - شماره ۶: سفکسیم.



**تصویر (۲):** مقایسه ممانعت از رشد عصاره پوست پسته با آنتی‌بیوتیک‌ها برای استرپتوکوک پایوژنز در پشت محیط کشت بلاد آگار شماره ۱: چاهک عصاره - شماره ۲: آمیکاسین - شماره ۳: متی‌سیلین - شماره ۴: ونکومايسين - شماره ۵: کلیندامایسین - شماره ۶: سفکسیم - شماره ۷: آزیترومایسین.



**تصویر (۳):** مقایسه ممانعت از رشد عصاره پوست پسته با آنتی‌بیوتیک‌ها برای باسیلوس سرئوس در محیط کشت مولر هینتون آگار شماره ۱: چاهک عصاره - شماره ۲: آمیکاسین - شماره ۳: سفکسیم - شماره ۴: اریترومايسين - شماره ۵: آمپی‌سیلین - شماره ۶: کلیندامایسین.



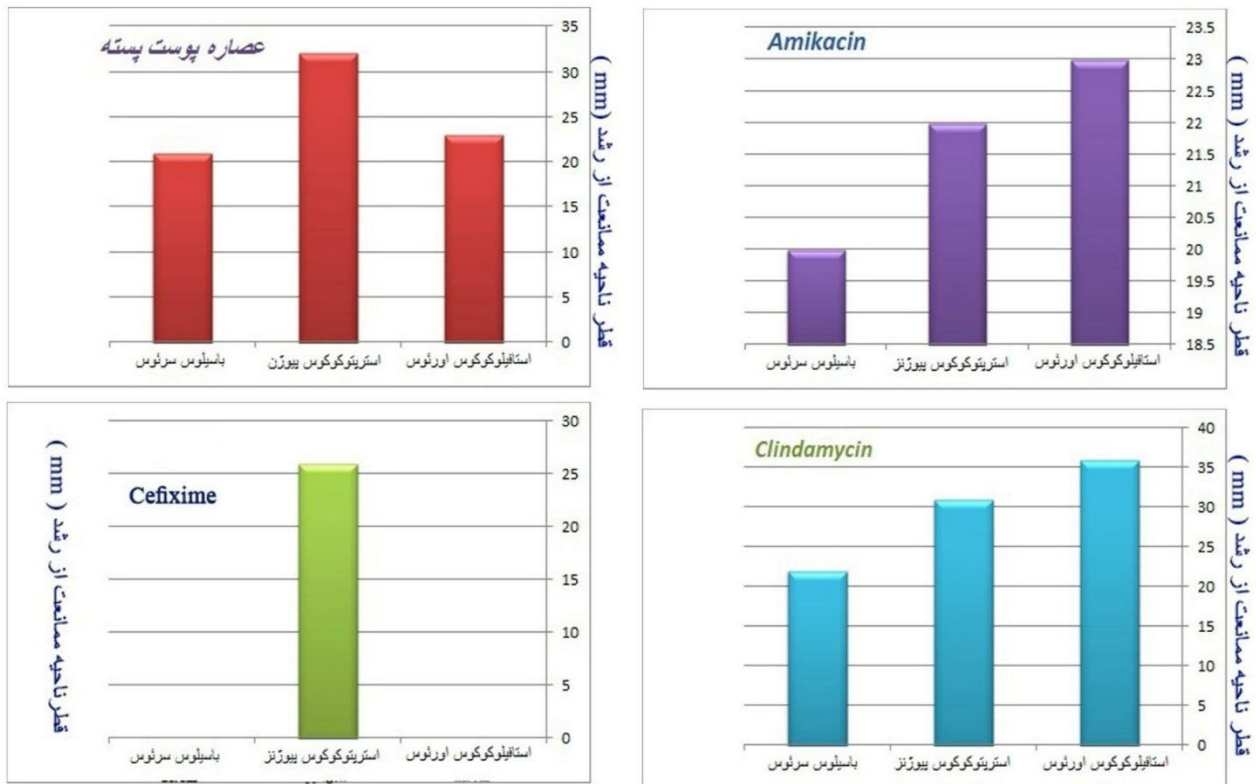
تصویر (۴): ارزیابی مقایسه‌ای بین دو روش ماکرو و میکرو دایلوشن

دیسک‌های تجاری آنتی‌بیوتیکی با عصاره پوست پسته نشان می‌دهد. مقایسه قطر نواحی ممانعت از رشد باکتری باسیلوس سرئوس را بین دیسک‌های تجاری آنتی‌بیوتیکی با عصاره پوست پسته نشان می‌دهد.

در جدول زیر مقایسه قطر نواحی ممانعت از رشد بر حسب میلی‌متر را در باکتری استافیلوکوک اورئوس را بین دیسک‌های تجاری آنتی‌بیوتیکی با عصاره پوست پسته نشان می‌دهد. مقایسه قطر نواحی ممانعت از رشد باکتری استرپتوکوک پیوژن را بین

جدول (۳): مقایسه قدرت ضد میکروبی عصاره پوست پسته با دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی

قطر ناحیه ممانعت کننده از رشد بر حسب (mm)					
دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی	اختصار	غلظت	استافیلوکوک اورئوس	استرپتوکوک پیوژن	باسیلوس سرئوس
کلیندامایسین	CD	2μ	۳۶	۳۱	۲۲
اریترومایسین	E	15μ	۳۲	-	۱۸
آزیترومایسین	AZM	15μ	-	۲۷	-
آمیکاسین	AK	30μ	۲۳	۲۲	۲۰
ونکومایسین	VA	30μ	۲۰	۲۳	-
متی سیلین	MET	5μ	-	۱۹	-
سفکسیم	CFM	5μ	مقاوم	۲۶	مقاوم
آمپی سیلین	AMP	10μ	-	-	مقاوم
عصاره پوست پسته		15μl	۲۳	۳۲	۲۱



**نمودار (۱):** نمودار مقایسه بین عصاره پوست پسته با سایر آنتی‌بیوتیک‌ها نظیر: سفیکسیم و کلیندامایسین و آمیکاسین از نظر MIC

## بحث و نتیجه گیری

استفاده از گیاهان دارویی از گذشته‌های دور در سنت ملل مختلف جهت درمان بیماری‌ها رواج داشته است. اغلب اسانس‌ها و عصاره‌ها به‌عنوان منبع ترکیبات آنتی‌میکروبیال از گیاهان خاص و بومی منطقه تأمین می‌شده است. مدت کوتاهی بعد از معرفی بنی‌سپلین‌ها به‌عنوان دارو در اوایل دهه ۱۹۴۰ مقاومت به پنی‌سیلین دیده شد. امروزه بیشترین مقاومت به داروها در سویه‌هایی دیده می‌شود که از بیمارستان‌ها جدا شده‌اند. بیشتر این مقاومت به علت تولید آنزیم بتالاکتاماز بوده که حلقه بتالاکتام دارو را هیدرولیز می‌کند. اکثر مقاومت‌ها به این آنتی‌بیوتیک‌ها در کلاس ۲ پلاسمیدی از استافیلوکوک‌ها یافت می‌شوند. اکثر سویه‌های مقاوم به متی‌سلین در بیماران بستری، در گروه فاژی سوم ۳ یافت می‌شوند. از خانواده گلیکوپپتیدها نظیر: ونکومایسین و تیکوپلانین در جهت درمان استافیلوکوک‌های مقاوم استفاده شده که با توجه به عوارض دارویی همواره بدن‌بال ترکیبات آنتی‌میکروبیال با

خطرات زیستی کم‌تر بوده تا نتایج بهتری در درمان حاصل شود (۱).

ریکرمونوز و همکاران<sup>۱</sup> در سال ۱۹۸۷ پس از اینکه نشان دادند که ترکیبات فنولیک مختلف اثرات مختلفی روی غشاء استافیلوکوک اورئوس دارند نتیجه گرفتند که ترکیبات فنولیک احتمالاً یک سازوکار مشترک ندارند و ممکن است که هدف‌های مختلفی در ارتباط با اثر ضد میکروبی آن‌ها وجود دارد (۱۴ و ۱۵). اما یکی دیگر از مهم‌ترین پیشرفت‌های قرن بیستم کشف آنتی‌بیوتیک‌ها بود که اولین قدم مهم در پیدایش آنتی‌بیوتیک‌های مدرن در سال ۱۹۳۰ با کشف اولین سولفانامید به‌نام پرونتوزیل ۲ توسط فردی به‌نام ژرالد دومگ برداشته شد. در ادامه با تولید ماکرولیدها که در غلظت پایین باکتریواستاتیک بوده ولی در غلظت بالا باکتریوسیدال می‌باشند بکار آمدند. لینکوزامیدها شامل: کلیندامایسین و لینکومایسین وغیره بوده که اثرات درمانی مناسب

<sup>2</sup> Prontosil

<sup>1</sup>Rico Muñoz

از بین بردن باکتری‌ها و قارچ‌ها، خواص آنتی‌اکسیدانی را در جهت پاکسازی و مهار رادیکال‌های آزاد می‌توان نسبت داد (۱۸).

کوندهی و همکاران ۲۰۱۵ بیان داشته که پسته ایران با نام علمی *Pistacia atlantica* دارای ترکیبات اسانس فنی بوده و در جلوگیری از تشکیل بیوفیلیم باکتری‌ها و قارچ‌های پاتوژن از اهمیت بالایی برخوردار است. عصاره پوست پسته و رزین حاصله از آن در کاهش کل بیوفیلیم‌های ناشی از استرپتوکوکوس موتانس قابل قبول ذکر نمود. در غلظت ۹۰ درصد از عصاره اثر فوری بر روی عملکرد بیوفیلیم‌ها دیده شد و نشان داد که قدرت نابودکنندگی زیادی دارد. این فعالیت همچنین با خاصیت ممانعت‌کنندگی از اتصال و چسبیدن میکروارگانیسم به سطوح پلی استرن همراه بود. بنابراین عصاره می‌تواند با موفقیت زیادی از تشکیل پلاک بر روی سطح دندان جلوگیری نماید. مهار استرپتوکوکوس موتانس در چسبیدن به مناطق مختلف برای تشکیل بیوفیلیم را با غلظت‌های کم‌تر از MIC از این عصاره که حاوی فلاونوئیدها و تانن‌هاست می‌توان انجام داد. این عصاره با داشتن فلاونوئیدهای شناخته شده خود که خاصیت ضدگلیکوترانسفرازی دارند، انتقال ترکیبات قندی را مهار می‌کنند. این عصاره غنی از فلاونوئید می‌تواند تولیدات اسیدی را در باکتری‌های استرپتوکوکوس موتانس، استرپتوکوک سالیواریوس، استرپتوکوک سوبرینوس، استرپتوکوک سنگوئیس، استرپتوکوک ویسکوزوس را مهار کند (۸).

در نتایج به‌دست آمده از پژوهش حاضر اثر این عصاره بر روی باکتری‌های گرم مثبت در حد قابل قبولی بوده و نشانگر حضور ترکیبات آنتی‌باکتریال مفید جهت استعمال خارجی و کاهش عفونت‌های پوستی بدنال سوختگی‌ها و جوش‌ها می‌تواند توصیه شود، همچنین به‌عنوان افزودنی مجاز خوراکی در راستای حفاظت مواد غذایی در برابر باکتری‌های اسپورزا نظیر باسیلوس سرئوس قابل مصرف است.

در پایان نتایج حاصله نشان داد که پوست پسته با اثرگذاری مطلوب خود بر روی باسیلوس سرئوس در واقع معادل اثرات داروی خالص کلیندامایسین بوده و نیز اثر ضد باکتریایی روی استافیلوکوک اورئوس از آنتی‌بیوتیک خالص سفیکسیم بیشتر بوده ولی با داروی آمیکاسین برابری کرده ولی اثر آن نسبت به کلیندامایسین کم‌تر می‌باشد. اثر عصاره روی استرپتوکوک پیوژن نسبت به آمیکاسین و کلیندامایسین بیشتر بوده اما از داروی شیمیایی خالص سفیکسیم کم‌تر است. نهایتاً توصیه می‌شود از این دسته ترکیبات گیاهی مؤثر جهت عفونت‌های موضعی استفاده شود.

### تشکر و قدردانی

داشته است. در درمان عفونت‌های عمقی استافیلوکوکی از کلیندامایسین می‌تواند استفاده شود.

گلی و همکاران در سال ۲۰۰۵ نشان دادند که پوست سبز پسته حاوی مقادیر قابل توجهی ترکیبات فنولیک می‌باشد که مقدار آن در مقایسه با منابع دیگر قابل توجه است (۸). با توجه به اینکه پوست سبز خارجی پسته حدود ۴۰ درصد از وزن میوه را تشکیل می‌دهد و بطور انبوهی در کشور تولید می‌شود، با توجه به اینکه پوست پسته از ضایعات تولیدات شناخته ولی با تغییر دیدگاه امروزه به‌عنوان منابع غنی پروتئین در جیره غذایی طیور و نیز به‌عنوان مواد ضد میکروبی مورد استفاده قرار می‌گیرد. نظر به اینکه وجود ترکیبات آنتی‌اکسیدانی در پوست سبز پسته در تحقیقات نشان داده شده که امکان تولید صنعتی آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی حاصل از این گیاه را بدنال دارد.

از برخی تحقیقات می‌توان به اولیوریا و همکاران در سال ۲۰۰۸ روی اثر ضد میکروبی عصاره آبی پوست گردو اشاره کرد. اثر ضد میکروبی عصاره پوست گردو روی باکتری‌های گرم منفی، گرم مثبت، مخمر و کپک بررسی شد. نتایج نشان داد که ترکیبات فنولیک تنها روی باکتری‌های گرم مثبت از جمله باسیلوس سرئوس، استافیلوکوک اورئوس و باسیلوس سوبتیلیس اثر ضد میکروبی دارد (۱۱).

از سوی دیگر نتایج پژوهش حاضر مبنی بر تأثیر عصاره بر عدم رشد باکتری اشریشیاکلی با مطالعه Ghalem در سال ۲۰۰۹ از کشور الجزایر در یک راستا بوده با این تفاوت که او به بررسی اسانس پسته پرداخته است. در هر حال نتایج محققان حاکی از اینست که در ترکیبات پوسته خارجی پسته ماده‌ای با پتانسیل آنتی‌باکتریال مناسب وجود دارد (۱۰، ۱۱).

تاران و همکاران در سال ۲۰۱۰ فعالیت ضد میکروبی عصاره برگ‌های گونه‌ای از پسته به نام *Pistacia khinjuk* با حلال‌هایی مانند کلروفرم، اتیل استات، اتیل الکل، دی اتیل اتر در برابر باکتری‌هایی نظیر باسیلوس سوبتیلیس، انتروکوک فکالیس، استافیلوکوکوس اورئوس، استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس، اشریشیا کلی، و کلبسیلا پنومونیه (۰.۵ - ۰.۲ MIC) مشاهده گردید (۱۹).

توحیدی و همکاران در سال ۲۰۱۱ با استفاده از تست حساسیت دیسک‌های دیفیوژن آغشته به این عصاره رشد باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت را مهار می‌نماید. محققین دریافتند که برگ‌های گونه‌ای از پسته به نام *Pistacia khinjuk* دارای ترکیبات شیمیایی جرم زدا نظیر آلفا پینن و بتا پینن را همراه خود دارند (۱۷). رهنما و همکاران در سال ۲۰۱۲ با توجه به ترکیبات فنی موجود در گیاهان که باوجود نقش کلیدی در زمینه



### تعارض منافع

سایر نویسندگان در این زمینه هیچ گونه تعارض منافی را تاکنون اعلام نکردند.

بدین وسیله از کلیه عزیزانی که در آزمایشگاه باکتری شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران در انجام این تحقیق ما را یاری نمودند صمیمانه تشکر و قدردانی می‌کنیم.

### References:

- Ajello L, Hay RJ. Topley & Wilson's microbiology and microbial infections. Volume 4: Medical mycology: Arnold, Hodder Headline; 2010. P. 869-79.
- Basu A, Garg P, Datta S, Chakraborty S, Bhattacharya T, Khan A, et al. *Vibrio cholerae* O139 in Calcutta, 1992-1998: incidence, antibiograms, and genotypes. *Emerging Infect Dis* 2000;6(2):139-47.
- Benhammou N, Bekkara FA, Panovska TK. Antioxidant and antimicrobial activities of the *Pistacia lentiscus* and *Pistacia atlantica* extracts. *African J Pharm Pharmacol* 2008;2(2):022-8.
- Betty A F, Sahn D, Bailey & Scott's diagnostic microbiology. 12th ed. Mosby; 2007. 736-49.
- Castola V, Bighelli A, Casanova J. Intraspecific chemical variability of the essential oil of *Pistacia lentiscus* L. from Corsica. *Bioch System Ecol* 2000;28(1):79-88.
- Chakraborty M, Mitra A. The antioxidant and antimicrobial properties of the methanol extract from *Cocosnuciferamesocarp*. *Food Chemistry* 2008; 107:994-9.
- Davidson PM, Sofos JN, Branen AL. *Antimicrobials in food*. CRCpress, Taylor & Francis, Boca Raton; 2005. P:61, 245-256.
- Ghalem BR, Mohamed B. Antimicrobial activity evaluation of the oleoresin oil of *Pistacia vera* L. *African J Pharm Pharmacol* 2009;3(3):92-6.
- Goli AH, Barzegar M, Sahari MA. Antioxidant activity and total phenolic compounds of pistachio (*Pistachia vera*) hull extracts. *Food Chemistry* 2005;92(3):521-5.
- Hall GS. Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology. *Lab Med* 2013;44(4):e436-e9.
- Kouidhi B, Al Qurashi YMA, Chaieb K. Drug resistance of bacterial dental biofilm and the potential use of natural compounds as alternative for prevention and treatment. *Microb Pathog* 2015;80:39-49.
- Mahon CR, Lehman DC, Manuselis Jr G. *Textbook of diagnostic microbiology*. 19<sup>th</sup> ed. Elsevier Health Sciences; 2014. P. 313-20.
- Oliveira I, Sousa A, Ferreira ICFR, Bento A, Estevinho L, Pereira JA. Total phenols, antioxidant potential and antimicrobial activity of walnut (*Juglans regia* L.) green husks. *Food Chem Toxicol* 2008;46(7):2326-31.
- Patel J, Cockerill F, Alder J, Bradford P, Eliopoulos G, Hardy D. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twenty-fourth informational supplement. *CLSI standards for antimicrobial susceptibility testing* 2014;34(1):1-226.
- Rahnama M, Najimi M, Ali S. Antibacterial effects of *Myristica fragrans*, *Zataria multiflora* Boiss, *Syzygium aromaticum*, and *Zingiber officinale* Rosci essential oils, alone and in combination with nisin on *Listeria monocytogenes*. *Comparative Clin Pathol* 2012;21(6):1313-6.
- Schwalbe R, Steele-Moore L, Goodwin AC. *Antimicrobial susceptibility testing protocols*: Crc Press; 2007. P.82-95.
- Talano KP. *Foundations in Microbiology*. Pasadena City College; 2015. P.114-20.

18. Taran M, Sharifi M, Azizi E, Khan AM. Antimicrobial activity of the leaves of *Pistacia khinjuk*. *J Medicin Plant* 2010; 9:81-5.
19. Tohidi M, Khayami M, Nejati V, Meftahizade H. Evaluation of antibacterial activity and wound healing of *Pistacia atlantica* and *Pistacia khinjuk*. *J Med Plants Res* 2011;5(17):4310-4.
20. Tortora, Gerard J. Gerard J. Tortora, Berdell R. Funke, Christine L. *Microbiology an introduction Case*. Boston: Benjamin Cummings; 11<sup>th</sup> ed. 2013.P. 216-20.

## THE EFFECT OF THE FRESH PEEL EXTRACT PISTACHIO (*PISTACIA ATLANTICA*) ON THE GROWTH OF STAPHYLOCOCCUS AUREUS, STREPTOCOCCUS PYOGENES AND BACILLUS CEREUS ISOLATED FROM CLINICAL SPECIMENS IN VITRO

Majid Sadeghpour<sup>1\*</sup>, Fatemeh Noorbakhsh<sup>2</sup>

Received: 20 Aug, 2015; Accepted: 18 Oct, 2015

### Abstract

**Background & Aims:** Nowadays, there are some undesirable side effects of synthetic drugs, the use of herbal medicines have been widely used as a treatment. New skin extract and pistachio on the above mentioned bacterial infection is more local. The aim of study was to evaluate the effects of antibacterial extract (methanol) prepared from fresh skin pistachios on Gram-positive bacteria (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Bacillus cereus*) isolated from clinical samples.

**Materials & Methods:** Clinical samples were collected from medical diagnostic laboratories then bacterial suspension was prepared equivalent to the 0.5 McFarland standard and then were re-planted to screen the antimicrobial activity of the extract hole method, disc diffusion and microdilution broth macrodilution was used to determine the minimum concentration (dilution) inhibitors and fatal ([2] MIC and [3] MBC) in conditions (in vitro) were to be evaluated.

**Results:** The extract effect on *Streptococcus pyogenes* compared to other bacteria than antibiotics amikacin, clindamycin, cefixime have the greatest impact. Due to the size of the diameter of inhibition Sensitivity have the more impact as follows: *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus* and *Bacillus cereus* was the most effective one. The results of the MIC of the extract on bacteria was reported as in broth macrodilution method of  $\mu\text{l/ml}$  16.1 and its MBC  $\mu\text{l/ml}$  32.2.

**Conclusion:** The above extracts are quite effective on bacteria and it is strongly recommended to use these plant compounds to improve skin bacterial infections, especially in burns and food poisoning caused by *Bacillus cereus*.

**Keywords:** Pistachio skin, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Bacillus cereus*, Antibacterial effect

**Address:** Department of Microbiology, Faculty of Biological Sciences, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

**Tel:** +98 9127160281

**Email:** majid\_sadeghpour@yahoo.com

SOURCE: URMIA MED J 2015; 26(9): 823 ISSN: 1027-3727

<sup>1</sup> Department of Microbiology, Faculty of Biological Sciences, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran (Corresponding Author)

<sup>2</sup> Assistant professor, Department of Microbiology, Faculty of Biological Sciences, Varamin-Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran