Journal of North Khorasan University of Medical Sciences
No 43, Volume 11, Issue 3

Research Article

Antimicrobial Effect of different Extracts of *Rosa damascena* on *E. coli*

Sepideh Gholami [1], Hedie Rahimpour Jahani [2], Neda Bakhshabadi [3], Reza Besharati [4,*]

[1] Department of Operating Room, School of Nursing and Midwifery, North Khorasan University of Medical Sciences, Bojnurd, Iran
[2] Student Research Committee of North Khorasan University of Medical Sciences, Bojnurd, Iran
[3] Department of Chemical Engineering, School of Engineering, Islamic Azad University, Quchan Branch, Quchan, Iran
[4] Department of Pathobiology and Laboratory Science, School of Medicine, North Khorasan University of Medical Sciences, Bojnurd, Iran
*** Corresponding author:** Reza Besharati, Department of Pathobiology and Laboratory Science, School of Medicine, North Khorasan University of Medical Sciences, Bojnurd, Iran. E-mail: Besharati313@gmail.com

DOI: 10.21859/nkjmd-110301

How to Cite this Article:
Gholami S, Rahimpour Jahani H, Bakhshabadi N, Besharati R. Antimicrobial Effect of different Extracts of *Rosa damascena* on *E. coli*. *J North Khorasan Univ Med Sci*. 2019; **11**(3):1-4. DOI: 10.21859/nkjmd-110301

Received: 10 Dec 2018
Accepted: 17 Jul 2019

Keywords:
Extract
Rosa damascenon
Antimicrobial Activity
Escherichia coli (*E. coli*)

Abstract

Introduction: Due to the resistance of microorganisms against antibiotics, the use of medicinal herbs as alternative medicines has become commonplace. The purpose of this study was to explore the antimicrobial effects of aqueous, ethanolic and acetonic extracts of Rosa damascenon on E. coli as one of the most common pathogenic bacteria.

Methods: Extraction was carried out using soaking method. To determine the antimicrobial effect of different extracts of Rosa damascenon, Agar diffusion and minimum inhibitory concentration (MIC) methods were employed.

Results: The results showed that ethanolic extract has better antimicrobial effect than other extracts. The halo size and the minimum inhibitory concentration for the ethanolic extract of Rosa damascenon were 21mm and M=25µg / ml respectively. The aqueous extract of Rosa damascenon was free of any antimicrobial effect against E.coli.

Conclusions: Because of the antimicrobial activity of ethanolic extract of Rosa damascenon, clinical studies can be conducted to illuminate the effectiveness of ethanolic extract of Rosa damascenon in treating infections.

مجله دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی
دوره ۱۱، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۸

مقاله پژوهشی

بررسی اثر ضد میکروبی عصاره‌های مختلف گل محمدی (*Rosa damascena*) بر باکتری اشرشیاکلی

سپیده غلامی [۱]، هدیه رحیم‌پورجهانی [۲]، ندا بخش‌آبادی [۳]، رضا بشارتی [۴،*]

[۱] عضو هیئت‌علمی، گروه اتاق عمل، دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی، بجنورد، ایران
[۲] کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی، بجنورد، ایران
[۳] کارشناس‌ارشد مهندسی شیمی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قوچان، ایران
[۴] عضو هیئت‌علمی، گروه میکروب شناسی، دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی، بجنورد، ایران
[*] **نویسنده مسئول:** رضا بشارتی، عضو هیئت علمی، گروه میکروب شناسی، دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی، بجنورد، ایران.
ایمیل: Besharati313@gmail.com

DOI: 10.21859/nkjms-110301

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۹/۱۹
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۴/۲۶

واژگان کلیدی:
عصاره
گل محمدی
خاصیت ضدمیکروب
اشرشیاکلی

چکیده

مقدمه: به علت مقاومت میکروارگانیسم‌ها در برابر آنتی بیوتیک ها، استفاده از گیاهان دارویی بعنوان جایگزین مناسب، امری مهم و ضروری می‌باشد. هدف از انجام این مطالعه، بررسی خاصیت ضد میکروبی عصاره‌های آبی، اتانولی و استونی گل محمدی بر روی باکتری اشرشیاکلی به عنوان یکی از شایعترین باکتری‌های بیماری زا می‌باشد.

روش کار: عصاره گیری به روش خیساندن انجام گرفته و برای تعیین خاصیت ضدمیکروبی عصاره‌های مختلف گل محمدی نسبت به باکتری *Escherichia coli* از روش انتشار در آگار و حداقل غلظت مهارکنندگی (Minimum inhibitory concentration) استفاده گردید.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که عصاره اتانولی اثر ضدمیکروبی بیشتری نسبت به سایر عصاره‌ها دارد. قطر هاله و حداقل غلظت مهارکنندگی برای عصاره اتانولی گل محمدی به ترتیب برابر ۲۱ mm و ۲۵ mg/ml می‌باشد. عصاره آبی گل محمدی نسبت به باکتری مورد مطالعه فاقد خاصیت ضد میکروبی بوده است.

نتیجه‌گیری: با توجه به مشخص شدن خاصیت ضد میکروبی عصاره اتانولی گل محمدی در این پژوهش؛ می‌توان با انجام تحقیقات بیشتربا استفاده بالینی از این عصاره به درمان عفونتها کمک نمود.

مقدمه

امروزه با توجه به مقاومت روز افزونی که باکتری‌ها نسبت به آنتی بیوتیک ها ی مشتق از میکروارگانیسم‌ها از خود نشان می‌دهند، استفاده از ترکیبات ضدمیکروبی موجود در گیاهان به عنوان ترکیب‌هایی طبیعی که اثرات کشندگی و بازدارندگی بر عوامل بیماری زا دارند، بیشتر مورد توجه قرار گرفته است [۱]. از دیرباز تا کنون، گیاهان دارویی به واسه خواص دارویی موجود در ترکیبات آنها، به طور گسترده در طب سنتی و پزشکی نوین استفاده می‌شوند [۲]. به علت اثرات جانبی آنتی بیوتیک ها و افزایش مقاومت میکروارگانیسم‌ها در برابر آنها، گیاهان دارویی از محبوبیت زیادی در برابر عفونت‌های باکتریایی برخوردار می‌باشند [۳]. از این رو محققان، به بررسی ترکیبات فعال استخراج شده از گونه‌های مختلف گیاهی جهت از بین بردن میکروارگانیسم‌های بیماری زا علاقه مند می‌باشند [۴]. گل محمدی یکی از گونه‌های گل سرخ (رُز) است و متعلق به گیاهان خانواده روزاسه و نام علمی آن *Rosa damascene* می‌باشد. مدارک تاریخی نشان می‌دهد که زادگاه آغازین این گل سرزمین کهن ایران و البته مناطق دیگری از خاورمیانه است. اکنون گل محمدی در مناطق مختلف ایران نظیر کاشان، قمصر، راوند، میمند و مناطقی از فارس، آذربایجان و قزوین کشت می‌شود. فرآورده‌های گوناگونی از گل محمدی تهیه می‌شود که از آن جمله می‌توان گلاب، و اسانس یا عطر را نام برد. همچنین در کشور کره چای گل محمدی مورد استفاده قرار می‌گیرد [۵-۷].

باتوجه به اینکه اشریشاکلی یکی از مهمترین باکتری‌های ایجاد کننده عفونت‌های بیمارستانی بوده و کنترل عفونت‌های بیمارستانی یکی از مسائل مهم بهداشتی و درمانی می‌باشد و باتوجه به مقاومت غالب این باکتری‌ها به به طیف وسیعی از آنتی‌بیوتیک‌ها، برآن شدیم که از گیاهان دارویی که دارای اثر ضد میکروبی باشند بعنوان جایگزین مناسب آنتی‌بیوتیک‌ها استفاده کنیم. لذا در این تحقیق اثر ضد میکروبی عصاره‌های مختلف گل محمدی (*Rosa damascena*) بر باکتری اشرشیاکلی مورد بررسی قرار گرفته است.

روش کار

این مطالعه تجربی-آزمایشگاهی در آزمایشگاه تحقیقاتی دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی انجام شد. کلیه محیط کشت‌های مورد استفاده در این تحقیق شامل Mueller Hinton Agar و Tryptic soy broth (از شرکت Merck آلمان) بود. میکروارگانیسم مورد استفاده در این تحقیق از کلکسیون باکتری و قارچهای صنعتی ایران خریداری شد که دارای مشخصه (ATCC = ۲۵۹۲۲) می‌باشد. اندام هوایی گیاه گل محمدی در فصل بهار از ناحیه خراسان شمالی جمع آوری گردید، و بعد از خشک کردن در سایه، به صورت پودر تهیه شد و از آنها جهت آزمایشات استفاده گردید. جهت تهیه عصاره از روش خیساندن استفاده گردید. g ۳۰ از نمونه در ml۲۷۰ آب، اتانول ۹۶٪ و استون به مدت ۲۴ ساعت خیسانده شد و در دمای ۳۷C° در انکوباتور قرار گرفت و پس از گذشت این مدت با سانتریفیوژ صاف گردید.

به منظور بررسی اثرات ضد باکتریایی عصاره‌های تهیه شده از گل محمدی از روش انتشار در آگار استفاده شد. در این روش مقدار µl ۲۰ از عصاره‌ها به دیسک‌های بلانک اضافه شد. بعد از فرو بردن سواپ استریل در شیرابه‌ی میکروبی در تمام سطح پلیت حاوی محیط مولر هینتون آگار کشت داده شد. در مرحله بعد با استفاده از پنس استریل دیسک‌های آغشته به عصاره‌های گل محمدی در سطح محیط کشت قرار گرفته و با کمی فشار روی محیط کشت ثابت گردید. پلیت ها در دمای ۳۷C° به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری شد، پس از آن با استفاده از خط کش دقیق قطر هاله‌های عدم رشد بر حسب mm اندازه گیری شد. همچنین از آنتی بیوتیک استاندارد تتراسایکلین (g per µ۳۰disc) به عنوان کنترل مثبت استفاده گردید [۸].

تمام آزمایش‌ها با ۳ بار تکرار انجام گرفت. در ادامه برای تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی گل محمدی از روش (MIC: Minimum inhibitory concentration) استفاده شد. محیط کشت (Tsb: Tryptic soy broth) با غلظت‌های ۳/۱، ۶/۲، ۱۲/۵، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ µg/ml از عصاره‌های آبی، اتانولی و استونی تهیه گردید و جداگانه در ۳ تکرار انجام گرفت. لوله‌ها در دمای ۳۷C° به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری شد. پایین‌ترین غلظتی که هیچ گونه کدورتی در آن مشاهده نشد، به عنوان حداقل غلظت مهارکنندگی تعیین گردید.

یافته‌ها

نتایج حاصل از بررسی اثر ضد میکروبی عصاره‌های مختلف گل محمدی به روش Agar diffusion [۴] در جدول ۱ و به روش MIC [۴] در جدول ۲ آورده شده است.

جدول ۱: میانگین قطر هاله‌های عدم رشد و MIC عصاره‌های مختلف گل محمدی بر *Escherichia coli*

عصاره	قطر هاله mm	mg/mL
اتانولی گل‌محمدی	۲۱±۱/۰	۲۵
استونی گل‌محمدی	۱۲±۱/۰	۱۰۰
آبی گل‌محمدی	۰-	
شاهد منفی (اتانول)	۸-±۱/۰	
شاهد منفی (استون)	۷-±۱/۰	
شاهد مثبت (تتراسایکلین)	۱۹±۱/۰	۵۰

در مطالعه حاضر بین دو گروه دریافت کننده عصاره آبی گل محمدی و تتراسایکلین اختلاف معناداری وجود داشت (P = ۰/۰۳) و عصاره آبی گل محمدی در غلظت مورد بررسی در مقایسه با تتراسایکلین هیچ گونه اثری بر روی باکتری *Escherichia coli* ندارد. بین عصاره استون گل محمدی و استون اختلاف معناداری وجود دارد (P > ۰/۰۰۱) بدین معنی که تأثیر ضدمیکروبی عصاره استون گل‌محمدی نسبت به استون خالص بیشتر می‌باشد؛ از طرفی مقایسه‌ی گروه استون گل محمدی و تتراسایکلین اختلاف معناداری را در جهت تأثیر ضدمیکروبی قوی‌تر تتراسایکلین نشان می‌دهد (P = ۰/۰۴). مقایسه دو به دوی گروه‌ها نشان داد که عصاره اتانول گل محمدی نسبت به اتانول خالص تأثیر ضد میکروبی قوی‌تری دارد (P > ۰/۰۰۱) همچنین؛ خاصیت ضد میکروبی عصاره اتانولی گل محمدی قابل رقابت با آنتی بیوتیک تتراساکلین است و در واقع این عصاره تأثیر ضدمیکروبی مشابه با آنتی بیوتیک تتراسایکلین دارد (P = ۰/۰۷). حداقل غلظت مهار کنندگی برای عصاره اتانولی گل محمدی برابر MIC =۲۵ mg/ml و برای عصاره استونی برابر ۱۰۰mg/ml بود که عصاره اتانولی گل محمدی بیشترین خاصیت مهارکنندگی را دارا بوده است.

آنالیزآماری: برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار آماری SPSS تحت نسخه ۲۰ استفاده شد، از آزمون کروسکال واریس جهت بررسی اختلاف بین میانگین‌ها در سطح P > ۰/۰۵ استفاده شد.

بحث

نتایج این تحقیق نشان داد که عصاره اتانولی اثر ضدمیکروبی بیشتری نسبت به سایر عصاره‌ها دارد. قطر هاله و حداقل غلظت مهارکنندگی برای عصاره اتانولی گل محمدی به ترتیب برابر ۲۱ mm و mg/ml ۲۵ می‌باشد. عصاره آبی گل محمدی نسبت به باکتری مورد مطالعه فاقد خاصیت ضد میکروبی بوده است.

یکی از بیماریهای مهم که همواره انسان با آن دست به گریبان بوده، بیماری‌های باکتریایی است و مقاومت باکتریایی در برابر عوامل ضد باکتریایی از موضوعات مهمی است که در امر درمان بیماریهای عفونی رو به افزایش است. با توجه به این موضوع، لزوم جستجو جهت یافتن داروهای ضد میکروبی جدید احساس می‌شود [۹]. با توجه به این موضوع اثر ضد میکروبی عصاره‌های آبی، اتانولی و استونی گل محمدی به دو روش انتشار دیسک و رقت مایع مورد بررسی قرار گرفت. روش رقت مایع یک روش بسیار حساس و پیچیده می‌باشد، در این روش اجزای مختلف عصاره در تماس مستقیم با میکروارگانیسم‌ها قرار می گیرند و مشکل عدم نفوذ ترکیب در محیط کشت وجود ندارد. طوری که اگر عصاره‌ی مورد بررسی انحلال اندکی در آب داشته باشد، باز هم به دلیل تماس مستقیم با میکروارگانیسم، توانایی اثرگذاری برآن را دارد [۱۰].

از نظر زمانی مقرون به صرفه است و حجم کم نمونه‌ی مورد نیاز است که از دیگر مزایای این روش به شمار می‌آید [۱۰, ۱۱]. در پروژه مورد بررسی خاصیت ضد میکروبی عصاره‌های گل محمدی بر باکتری اشرشیاکلی به روش انتشار دیسک در آگار مورد بررسی قرار گرفته است.

جدول ۲: نتایج حاصل از بررسی حداقل غلظت مهارکنندگی MIC (غلظت عصاره *10^{-3}) (غلظت بر حسب mg/ml)

عصاره	۲۰۰	۱۰۰	۵۰	۲۵	۱۲/۵	۶/۲	۳/۱
اتانولی گل محمدی	-	-	-	-	+	+	+
استونی گل محمدی	-	-	+	+	+	+	+
آبی گل محمدی	+	+	+	+	+	+	+
تتراسایکلین	-	-	-	+	+	+	+

نتایج این آزمایش نشان می‌دهد که عصاره اتانولی بیشترین خاصیت ضد میکروبی را در هر دو روش انتشار دیسک و MIC داشته است. در روش MIC محدوده غلظت برای بررسی خواص ضد میکروبی mg/ml ۲۰۰تا ۳/۱ بوده است. حداقل غلظت مهار کنندگی برای عصاره اتانولی گل محمدی برابر mg/ml ۲۵ بود.. ایمان هالوانی با استفاده از روش انتشار در آگار نیز نشان داد که عصاره اتانولی، آبی و متانولی گل محمدی دارای خاصیت ضدمیکروبی علیه باکتریهای گرم مثبت و گرم منفی است و بیشترین خاصیت ضد میکروبی را عصاره اتانولی بر روی باکتری‌های اشرشیاکلی و پسودوموناس آئرژینوزا دارد [۱۲]. شهیب و همکاران در پژوهشی روی اثرات ضد میکروبی و ضدقارچی گیاه گل محمدی کار کردند که نتایج پژوهش نشان دهنده‌ی حساسیت بیشتر باکتری‌های گرم مثبت در مقایسه با باکتری‌های گرم منفی نسبت به عصاره گل محمدی بود [۱۳]. مانکر در تحقیقی دیگر اثرهای ضد میکروبی گونه‌های مختلف گل رز را بررسی کرد و به این نتیجه رسید که از این بین، ۱۹ گونه از گیاهان خانواده گل رز آثار ضدمیکروبی متوسط تا قوی و ۳ گونه اثر ضد میکروبی ضعیف دارند [۱۴].

نتیجه‌گیری

با توجه مشخص شدن خاصیت ضد میکروبی عصاره اتانولی گل محمدی در این پژوهش می‌توان با انجام تحقیقات بیشتر از آن بعنوان جایگزین مناسب آنتی بیوتیکها در درمان عفونتها استفاده نمود.

سپاسگزاری

این پژوهش با پشتیبانی دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی و با شماره طرح ۹۸۰۱۲۴ و کد اخلاق IR.NKUMS.REC.1398.058 انجام گرفته است. بدین وسیله از مسؤولین محترم دانشگاه علوم پزشکی و همکاران آزمایشگاه میکروب شناسی این دانشگاه به خاطر کمک‌های بی دریغشان کمال تشکر و قدردانی را دارم.

References

1. Izadi Z, Sorooshzadeh A, Modarres Sanavi SAM, Esna-Ashari M, Davoodi P. Investigation on antimicrobial effects of essential oil of purple coneflower (Echinacea purpurea L.) and identification of its chemical compounds. South Med J. 2014;17(1):58-69.
2. Hosseini SH, Rajabzadeh R, Nosrati H, Naseri F, Toroski M, Mohaddes Hakkak H, et al. Prevalence of medicinal herbs consumption in pregnant women referring to Bojnurd health care centers. Iran J Obstet Gynecol Infert. 2017;20(9):33-40.
3. Aghdaie SFA, Zardini HZ. Investigating the Effective Factors of Improvement and Development of Medicinal Plants in Iran (Case Study: Isfahan City). New Market Res J. 2014;4(1).
4. Tabatabaei Yazdi F, Alizadeh Behbahani B, Heidari Sureshjani M, Mortazavi SA. The in vitro study of antimicrobial effect of Teucrium polium extract on infectious microorganisms. Avicenna J Clin Med. 2014;21(1):16-24.
5. Kumar N, Bhandari P, Singh B, Bari SS. Antioxidant activity and ultra-performance LC-electrospray ionization-quadrupole time-of-flight mass spectrometry for phenolics-based fingerprinting of Rose species: Rosa damascena, Rosa bourboniana and Rosa brunonii. Food Chem Toxicol. 2009;47(2):361-7. doi: 10.1016/j.fct.2008.11.036 pmid: 19100811
6. Awale S, Tohda C, Tezuka Y, Miyazaki M, Kadota S. Protective Effects of Rosa damascena and Its Active Constituent on Abeta(25-35)-Induced Neuritic Atrophy. Evid Based Complement Alternat Med. 2011;2011:131042. doi: 10.1093/ecam/nep149 pmid: 19789212
7. Ramezani R, Moghimi A, Rakhshandeh H, Ejtehadi H, Kheirabadi M. The effect of Rosa damascena essential oil on the amygdala electrical kindling seizures in rat. Pak J Biol Sci. 2008;11(5):746-51. doi: 10.3923/pjbs.2008.746.751 pmid: 18819571
8. Baron E, Finegold S. Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology. USA: Mosby Co; 1990.
9. Moradi N, Javadpoor S, Vahdani M. Prevalence and antibiogram pattern of gram negative bacteria isolated from blood cultures in Shahid mohammadi hospital Bandar Abbas. J Prev Med. 2015;2(2):55-61.
10. Rios JL, Recio MC, Villar A. Screening methods for natural products with antimicrobial activity: a review of the literature. J Ethnopharmacol. 1988;23(2-3):127-49. doi: 10.1016/0378-8741(88)90001-3 pmid: 3057288
11. Duffy CF, Power RF. Antioxidant and antimicrobial properties of some Chinese plant extracts. Int J Antimicrob Agents. 2001;17(6):527-9. doi: 10.1016/s0924-8579(01)00326-0 pmid: 11434342
12. Eman MH. Antimicrobial activity of Rosa damascena petals extracts and chemical composition by gas chromatography-mass spectrometry (GC/MS) analysis. Afr J Microbiol Res. 2014;8(24):2359-67. doi: 10.5897/ajmr2014.6829
13. Shohayeb M, Abdel-Hameed E-SS, Bazaid SA, Maghrabi I. Antibacterial and antifungal activity of Rosa damascena MILL. essential oil, different extracts of rose petals. Global J Pharmacol. 2014;8(1):1-7.
14. Mankar S. Screening of Antibacterial Activity of Rose Varieties against Bacterial Pathogens. Int J Life Sci. 2015;3(1):99-104.