

سید محمد مهدی محمودی^{۱*}، فرحناز
جوانمردی^۲

^۱ استادیار، گروه میکروبیولوژی، دانشکده
علوم پایه، واحد کازرون، دانشگاه آزاد
اسلامی، کازرون، ایران

^۲ استادیار، گروه زیست شناسی، دانشکده
علوم پایه، واحد کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی،
کازرون، ایران

مطالعه اثر ضد باکتریایی عصاره گیاه اسپند بر /ستریپتوکوکوس سانگوینیس و بررسی اثر سینرژیسم آن با برخی از آنتی بیوتیک‌های رایج

تاریخ دریافت مقاله: ۱۴۰۰/۱۲/۱۳ : تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۶/۷

چکیده

زمینه و هدف: امروزه راهکار اصلی درمان عفونت‌های باکتریایی، استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها است ولی به دلیل عوارض جانبی و افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی، استفاده از روش‌های مکمل یا جایگزین برای درمان بیماری‌های عفونی اهمیت ویژه‌ای پیدا کرده است.

مواد و روش‌ها: با روش خیساندن، عصاره‌های آبی و الکلی دانه‌های اسپند تهیه شد. حداقل غلظت ممانعتی و حداقل غلظت کشندگی عصاره‌ها، در خصوص یک سویه از باکتری /ستریپتوکوکوس سانگوینیس تعیین گردید. همچنین اثر سینرژیسم عصاره‌های تولیدی، با آنتی‌بیوتیک‌های آمپی‌سیلین، اریترومايسين و کلیندامایسین مورد بررسی قرار گرفت. **یافته‌ها:** نتایج این تحقیق نشان داد که عصاره آبی اسپند در غلظت‌های ۱۲۵۰ و ۲۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر، و عصاره الکلی این گیاه نیز در غلظت‌های ۶۲۵ و ۱۲۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر به ترتیب دارای اثر مهار و کشندگی بر باکتری مورد بررسی می‌باشند. در بررسی پدیده سینرژیسم بین عصاره‌های آبی و الکلی با آنتی‌بیوتیک‌های مورد مطالعه که به روش شطرنجی انجام گرفت، مشخص گردید که عصاره الکلی این گیاه با آنتی‌بیوتیک کلیندامایسین اثر سینرژیسم دارد. **نتیجه‌گیری:** عصاره الکلی دانه‌های اسپند می‌تواند اثر ضد باکتریایی مناسبی را بر علیه /ستریپتوکوکوس سانگوینیس، یکی از گونه‌های مهم ساکن در دهان افراد و عامل عفونت قلب، نشان دهد. انجام تحقیقات بیشتر در خصوص استخراج و خالص‌سازی ترکیبات موثر از این گیاه و بررسی اثرات درمانی یا عوارض جانبی احتمالی آن در بدن موجود زنده، می‌تواند گامی در جهت استفاده از داروهای گیاهی به عنوان مکمل و یا جایگزین آنتی‌بیوتیک‌های رایج محسوب شود.

واژه‌های کلیدی: اسپند، عصاره آبی، عصاره الکلی، سینرژیسم

نویسنده مسئول:

*استادیار، گروه میکروبیولوژی، دانشکده
علوم پایه، واحد کازرون، دانشگاه آزاد
اسلامی، کازرون، ایران

۰۹۱۷۷۰۴۴۸۰۰

mm.mahmoodi@iau.ac.ir

مقدمه

حفره دهان یک اکوسیستم بسیار متنوع، پویا و منحصر به فرد است. باکتری‌های مختلفی در حفره دهان وجود دارند که اغلب آنها به عنوان فلور طبیعی دهان عمل نموده و در حفظ و پایداری اکولوژی میکروبی دهان نقش اساسی دارند و برخی نیز به واسطه مجهز بودن به عوامل مختلف بیماریزا، در ایجاد بیماری‌های دهان و دندان و یا عفونت‌های سیستمیک نقش مهمی را ایفا می‌کنند.^۱

جنس استرپتوکوکوس یکی از مهمترین جنس‌هایی است که گونه‌های مختلف آن همچون *استرپتوکوکوس مانیسی*، *استرپتوکوکوس موتانس*، *استرپتوکوکوس سالیاروس*، *استرپتوکوکوس سانگونیس* و *استرپتوکوکوس اورالیس* به فراوانی در حفره دهان و به ویژه در زیست توده تشکیل شده بر روی سطوح دندان‌ها یافت می‌شوند. برخی از این گونه‌ها همچون *استرپتوکوکوس موتانس* با ایجاد پلیمرهای چسبناک و نامحلول سهم مهمی در ایجاد پلاک‌های دندانی داشته و برخی دیگر نیز همچون *استرپتوکوکوس سانگونیس* می‌توانند با ورود به جریان خون، در ایجاد عفونت اندوکاردیت نقش داشته باشند.^{۲،۳} تحقیقات مختلف نشان داده‌اند که دیگر گونه‌های میکروبی موجود در دهان نیز می‌توانند در پیدایش برخی از بیماری‌های سیستمیک همچون بیماری‌های قلبی - عروقی، رماتیسم مفصلی، پوکی استخوان و یا کاهش وزن نوزادان به صورت مستقیم یا غیر مستقیم نقش داشته باشند.^{۴،۵}

باکتری *استرپتوکوکوس سانگونیس* که قبلاً با نام *استرپتوکوکوس سانگویس* شناخته می‌شد یک باکتری کروی، گرم مثبت و بی‌هوازی اختیاری بوده که به طور طبیعی در حفره دهان یافت می‌شود. این باکتری می‌تواند از طریق زخم‌ها و جراحات‌های ایجاد شده در محوطه دهان (به ویژه هنگام جراحی لثه یا کشیدن دندان) وارد جریان خون شده و در افرادی که مبتلا به تصلب شرائین و یا اختلال در عملکرد طبیعی قلب و عروق باشند، بر روی دریچه‌های قلب به ویژه دریچه میترال تجمع یافته و موجب عفونت اندوکاردیت شود. دندان پزشکان به منظور پیشگیری از این عفونت معمولاً یک دوره درمان آنتی‌بیوتیکی برای شخص تجویز می‌نمایند.^۶ مسئله پیدایش و گسترش مقاومت آنتی‌بیوتیکی، یکی از

مشکلات عمده‌ای است که در قرن اخیر جامعه پزشکی با آن مواجه می‌باشد و ضرورت به کارگیری داروهای مکمل، آنتی‌بیوتیک‌های جدید و یا روش‌های ضد میکروبی جایگزین که کمترین عوارض جانبی را داشته باشند بیش از پیش احساس می‌شود.^۷ تحقیقات نشان داده‌اند که بسیاری از گیاهان برای حفاظت خود در برابر عوامل بیماریزا مجهز به ترکیبات ضد میکروبی هستند و استفاده از خواص ضد میکروبی عصاره گیاهان می‌تواند در برخی از عفونت‌ها به عنوان داروی مکمل و یا جایگزین موثر واقع شود. جنس اسپند (*پگانوم هارملا*) در تیره زیگوفیالاسه جای داشته و به جز چند استثناء، همگی گونه‌های این گیاه در نواحی معتدل و گرمسیر انتشار دارند. از پوسته دانه‌های اسپند و همچنین از انتهای سر شاخه‌های گلدار این گیاه آلکالوئیدها و فلاونوئیدهایی با خواص درمانی مختلف استخراج می‌گردد.^۸ عصاره این گیاه به عنوان ضد درد و ضد التهاب کاربرد دارد و همچنین به عنوان ضد سرطان، مهار تجمع پلاکت، تاثیر بر سیستم اعصاب مرکزی و اثرات مفید بر سیستم ایمنی گزارش شده است.^۹

هدف از این پژوهش بررسی خواص ضد باکتریایی عصاره آبی و الکلی گیاه اسپند بر روی باکتری *استرپتوکوکوس سانگونیس* بود ضمن اینکه اثر سینرژسم این عصاره با تعدادی از آنتی‌بیوتیک‌های رایج نیز مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه پژوهشی - کاربردی، باکتری *استرپتوکوکوس سانگونیس* سویه IBRC-M 10678 به صورت آمپول لیوفیلیزه از مرکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران تهیه گردید. با رعایت شرایط استریل، کشت ۱۸ ساعته باکتری در محیط تریپتیکاز سوی آگار حاوی ۵ درصد خون دفیبرینه گوسفند تهیه شد. با انجام چندین آزمون فنوتیپی و بیوشیمیایی همچون رنگ آمیزی گرم، آزمون همولیز، کاتالاز، اکسیداز، هیپورات، اسکولین، حساسیت به آپتوجین و تخمیر قندها اصالت باکتری مورد تایید قرار گرفت.^۲

تهیه عصاره‌های آبی و الکلی

دانه‌های گیاه اسپند که قبلاً توسط هرباریوم گیاه‌شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون مورد شناسایی و تایید قرار گرفته بودند

تعیین اثر سینرژیسم عصاره‌های آبی و الکلی با برخی آنتی‌بیوتیک‌های رایج

در این تحقیق، به منظور بررسی اثر سینرژیسم بین عصاره‌های آبی و الکلی اسپند با برخی از آنتی‌بیوتیک‌های رایج در دندانپزشکی، آنتی‌بیوتیک‌های آمپی‌سیلین، اریترومايسين و کلیندامایسین انتخاب و تهیه شدند. مطابق دستورالعمل موسسه استاندارد آزمایشگاهی و بالینی (CLSI, ۲۰۱۸) با حل نمودن مقدار مناسبی از پودر این آنتی‌بیوتیک‌ها در محیط کشت مولر هیتون برات، محلول‌هایی با غلظت $64 \mu\text{g/ml}$ تهیه شد و همانند آنچه که در خصوص عصاره‌های آبی و الکلی بیان شد، با روش رقیق‌سازی متوالی، MIC و MBC آنتی‌بیوتیک‌ها نیز تعیین گردید^{۱۲،۱۳}.

جهت بررسی اثر سینرژیسم بین عصاره‌ها با آنتی‌بیوتیک‌ها، از روش ترکیب شطرنجی استفاده شد. برای این منظور سایر رقت‌های تهیه شده از عصاره‌ها با سایر رقت‌های تهیه شده از آنتی‌بیوتیک‌ها به صورت شطرنجی با یکدیگر ترکیب گشته و تاثیر مخلوط حاصله، بر باکتری هدف مورد بررسی قرار گرفت^{۱۴}.

جهت ارزیابی نتایج سینرژیسم، شاخص نسبی غلظت ممانعت‌کنندگی FIC تعیین گردید. برای این منظور $\text{FIC}_{\text{Extract}}$ (MIC عصاره در حالت مخلوط با آنتی‌بیوتیک، تقسیم بر MIC عصاره به تنهایی) و $\text{FIC}_{\text{Antibiotic}}$ (MIC آنتی‌بیوتیک در حالت مخلوط با عصاره، تقسیم بر MIC آنتی‌بیوتیک به تنهایی) تعیین گردیدند و سپس مجموع آنها به عنوان شاخص FIC محاسبه گردید^{۱۴}.

$$\text{FIC index} = \text{FIC}_{\text{Extract}} + \text{FIC}_{\text{Antibiotic}}$$

اگر $\text{FIC index} \leq 0.5$ باشد نشانه پدیده سینرژیسم (synergism) بین آنتی‌بیوتیک و عصاره خواهد بود.

اگر $0.5 < \text{FIC index} \leq 1$ باشد نشانه جمع اثرات ضد باکتریایی (additive) آنتی‌بیوتیک و عصاره خواهد بود.

اگر $1 < \text{FIC index} \leq 2$ باشد نشانه عدم وجود رابطه (indifferent) بین آنتی‌بیوتیک و عصاره خواهد بود.

اگر $\text{FIC index} > 2$ باشد نشانه پدیده تضاد (antagonism) بین آنتی‌بیوتیک و عصاره خواهد بود^{۱۴}.

را به منظور آلودگی‌زدایی سطحی با آب مقطر استریل شستشو داده و در سایه خشک شدند. از دانه‌های خشک شده، توسط آسیاب برقی پودر تهیه شد و عصاره‌های آبی و الکلی اسپند با روش خیساندن تهیه گردید. برای تهیه عصاره آبی، ۲۰ گرم پودر اسپند در یک ارلن حاوی ۲۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر استریل ریخته شد. در مورد عصاره الکلی نیز ۲۰ گرم پودر اسپند در ارلن حاوی ۲۰۰ میلی‌لیتر اتانول ۹۶ درصد ریخته شد. ارلن‌ها به مدت ۴۸ ساعت بر روی دستگاه شیکر با گشتاور ۱۰۰ دور در دقیقه و در دمای اتاق (۲۵ درجه سلسیوس) قرار داده شدند. عصاره‌های آبی و الکلی را توسط کاغذ واتمن شماره ۱ صاف نموده و سپس با قرار دادن در آون با دمای ۴۰ درجه سلسیوس به صورت پودر خشک تهیه شدند^{۱۵}.

تعیین کمترین غلظت ممانعت‌کنندگی و کشندگی عصاره‌ها

میزان ۰/۱ گرم از پودر عصاره‌های آبی و الکلی را (هر کدام به صورت جداگانه) در ۱۰ میلی‌لیتر محیط کشت مولر هیتون برات استریل حل نموده و سپس با روش رقیق‌سازی متوالی، لوله‌هایی با رقت‌های ۱۰، ۵، ۲/۵، ۱/۲۵ و ۰/۶۲۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر از هر عصاره تهیه شد. با حل نمودن تعدادی از کلنی‌های باکتری در یک لوله حاوی محیط مولر هیتون برات و مقایسه کدورت حاصله، با لوله استاندارد ۰/۵ مک فارلند، غلظت باکتری/سترپ سانگونیس معادل $10^8 \times 1/5$ باکتری در میلی‌لیتر تنظیم گردید. از این محلول باکتری، به تمامی لوله‌های حاوی عصاره به میزان ۰/۱ میلی‌لیتر تلقیح شد. به منظور جلوگیری از تشکیل H_2O_2 و اثر بازدارندگی آن بر باکتری، لوله‌ها را درون محفظه بی‌هوازی قرار داده و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۵ درجه سلسیوس گرمخانه‌گذاری شدند. کمترین غلظت عصاره‌ها که توانسته بود از رشد باکتری ممانعت نماید به عنوان MIC در نظر گرفته شد^{۱۱}. جهت تعیین کمترین غلظت کشندگی عصاره‌ها، از تمامی لوله‌ها توسط حلقه کشت نمونه‌برداری شده و در سطح پلیت‌های تریپتیکیز سوی آگار حاوی ۵ درصد خون گوسفند کشت داده شد و پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۵ درجه سلسیوس گرمخانه‌گذاری شدند. کمترین غلظت عصاره که توانسته بود موجب مرگ باکتری شود به عنوان MBC در نظر گرفته شد^{۱۱}.

یافته‌ها

در این تحقیق از یک سویه شناخته شده /استرپتوکوکوس سانگونیس استفاده گردید. چندین آزمون فنوتیپی و بیوشیمیایی بر روی آن انجام گرفت که نتایج آن به صورت کوکسی گرم مثبت، دارای همولیز آلفا، کاتالاز منفی، اکسیداز منفی، هیپورات منفی، اسکولین مثبت و مقاوم به آپتوچین مشخص شد. آزمون‌های MIC و MBC عصاره‌های آبی و الکلی دانه‌های اسپند بر باکتری /استرپتوکوکوس سانگونیس مورد بررسی قرار گرفت که نتایج آن در جدول ۱ نشان داده شده است.

نتایج حداقل غلظت ممانعتی و حداقل غلظت کشندگی آنتی‌بیوتیک‌های مورد بررسی نیز بر روی باکتری /استرپتوکوکوس سانگونیس در جدول ۲ نشان داده شده است. در این تحقیق اثر سینرژیسم عصاره‌های آبی و الکلی اسپند با آنتی‌بیوتیک‌ها مورد بررسی قرار گرفت که نتایج آن در جدول ۳ نشان داده شده است.

جدول ۱: نتایج MIC و MBC عصاره‌های آبی و الکلی اسپند بر باکتری /استرپتوکوکوس سانگونیس

عصاره الکلی دانه اسپند		عصاره آبی دانه اسپند	
MIC (µg/ml)	MBC (µg/ml)	MIC (µg/ml)	MBC (µg/ml)
۶۲۵	۱۲۵۰	۱۲۵۰	۲۵۰۰

جدول ۲: نتایج حداقل غلظت ممانعتی و کشندگی آنتی‌بیوتیک‌های مورد مطالعه

CLSI range			MIC (µg/ml)	MBC (µg/ml)	آنتی‌بیوتیک
S	I	R			
≤ ۰/۲۵	۰/۵ - ۴	≥ ۸	۰/۱۲۵	۰/۵	آمپی‌سیلین
≤ ۰/۲۵	۰/۵	≥ ۱	۰/۵	۸	اریترومایسین
≤ ۰/۲۵	۰/۵	≥ ۱	۰/۲۵	۱	کلیندامایسین

S: حساس، I: نیمه حساس، R: مقاوم

جدول ۳: نتایج اثر سینرژیسم عصاره‌های آبی و الکلی اسپند با آنتی‌بیوتیک‌های مورد مطالعه

ترکیب عصاره الکلی					ترکیب عصاره آبی				
نتایج	FIC _i	FIC _A	FIC _E	با	نتایج	FIC _i	FIC _A	FIC _E	با
جمع اثر	۰/۷۵	۰/۵	۰/۲۵	آمپی‌سیلین	بی اثر	۱/۲۵	۱	۰/۲۵	آمپی‌سیلین
جمع اثر	۰/۷۵	۰/۵	۰/۲۵	اریترومایسین	بی اثر	۱/۵	۱	۰/۵	اریترومایسین
سینرژیسم	۰/۵	۰/۲۵	۰/۲۵	کلیندامایسین	جمع اثر	۰/۷۵	۰/۵	۰/۲۵	کلیندامایسین

FIC_E: MIC عصاره در حالت مخلوط با آنتی‌بیوتیک، تقسیم MIC عصاره به تنهاییFIC_A: MIC آنتی‌بیوتیک در حالت مخلوط با عصاره، تقسیم MIC آنتی‌بیوتیک به تنهاییFIC_i: مجموع FIC_E با FIC_A

بحث و نتیجه گیری

امروزه گسترش مقاومت دارویی در بین سویه های مختلف میکروبی موجب شده که محققین به دنبال کشف، شناسایی و یا تولید عوامل ضد میکروبی دیگری باشند. پیدایش مقاومت دارویی معضل جدیدی نبوده بلکه از بدو استفاده از آنتی بیوتیک ها در درمان بیماری های عفونی وجود داشته است. در سال ۲۰۰۳ سازمان بهداشت جهانی از مقاومت دارویی در برابر آنتی بیوتیک ها به عنوان یک "تهدید بزرگ جهانی" نام برده است.^۷

در تحقیق حاضر، از دانه های گیاه اسپند، عصاره های آبی و الکلی تهیه گردید و حداقل غلظت ممانعتی و کشندگی این عصاره ها بر باکتری / استرپتوکوکوس سانگونیس با روش رقیق سازی متوالی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این بررسی نشان داد که عصاره آبی اسپند در غلظت های ۱۲۵۰ و ۲۵۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر، و عصاره الکلی این گیاه نیز در غلظت های ۶۲۵ و ۱۲۵۰ میکروگرم بر میلی لیتر به ترتیب دارای اثر مهاری و کشندگی بر باکتری مورد بررسی می باشند. در مطالعه ای که میان و همکاران در سال ۲۰۱۰ انجام دادند مشخص گردید که عصاره های آبی و الکلی دانه های اسپند بر باکتری لاکتوباسیلوس و مخمر کاندیدا جدا سازی شده از بزاق دهان اثر مهاری قابل توجهی داشته و حتی بهتر از دهان شویه کلرهگزیدین عمل می کنند.^{۱۰}

نیگیل و همکاران در سال ۲۰۱۱ در مطالعه خود به بررسی اثر آنتی اکسیدانی و خواص ضد میکروبی عصاره دانه بلوط بر علیه باکتری های / شریشیا کلی، پروتئوس میرابیلیس، / ستاف اورئوس و / استرپ پاپیونز پرداخته و نشان دادند که عصاره بلوط خام می تواند نقش موثری در مهار رشد این باکتری ها داشته باشد.^۹

در مطالعه اخیر، با مقایسه ارقام MIC و MBC عصاره های آبی و الکلی، مشاهده گردید که عصاره الکلی دانه های اسپند اثر ضد میکروبی قویتری بر باکتری / استرپتوکوکوس سانگونیس، در مقایسه با عصاره آبی این گیاه داشت. بسری و همکاران نیز در سال ۲۰۰۵ در مطالعه ای که بر روی عصاره های آبی، متانولی و استونی گال های گیاه *Quercus infectoria* بر / استرپتوکوکوس موتانس و / استرپتوکوکوس سالیاریوس عامل پوسیدگی دندان داشتند متوجه شدند که عصاره های متانولی و استونی این گیاه اثر ضد باکتریایی

بالتری در مقایسه با عصاره آبی آن دارد.^{۱۱} در تحقیق دیگری نیز که توسط محمدی سیچانی و همکاران در سال ۲۰۱۵ صورت گرفته مشخص شده است که عصاره های متانولی، اتانولی و استونی گال های گیاه مازو در غلظت ۶۳۰ میکروگرم بر میلی لیتر تاثیر مهاری بر رشد باکتری / استرپتوکوکوس موتانس داشته اند.^{۱۵}

در تحقیق حاضر، اثر ضد باکتریایی سه آنتی بیوتیک رایج در دندانپزشکی شامل آمپی سیلین، اریتروماisin سین و کلیندامای سین بر باکتری / استرپتوکوکوس سانگونیس مورد بررسی قرار گرفت و مشخص گردید که سویه مورد بررسی، نسبت به آنتی بیوتیک های آمپی سیلین و کلیندامای سین حساس بوده اما نسبت به اریتروماisin نیمه حساس بود. اریکسون و همکاران در سال ۱۹۹۹ گزارش کرده اند که باکتری / استرپتوکوکوس سانگونیس موجود در دهان ۶۰ درصد از کودکان مورد مطالعه که به منظور درمان عفونت گوش میانی، آنتی بیوتیک دریافت کرده بودند، به تدریج نسبت به آنتی بیوتیک های پنی سیلین، آموکسی سیلین، اریتروماisin و کوتریموکسازول مقاوم شده است.^{۱۶}

در بررسی وقوع پدیده سینرژیسم بین عصاره های آبی و الکلی اسپند با آنتی بیوتیک های مورد مطالعه که به روش شطرنجی انجام گرفت مشخص گردید که عصاره الکلی این گیاه با آنتی بیوتیک کلیندامای سین رابطه سینرژیسم داشته و ترکیب آنها می تواند میزان MIC را بر علیه باکتری مورد بررسی به میزان قابل توجهی کاهش دهد. همانطور که در جدول ۳ مشخص گردیده، عصاره الکلی اسپند با آنتی بیوتیک های آمپی سیلین و اریتروماisin، و عصاره آبی این گیاه با آنتی بیوتیک کلیندامای سین دارای اثر جمع شوندگی می باشند یعنی اثر ضد باکتریایی مخلوط عصاره و آنتی بیوتیک برابر جمع جبری اثرات هر کدام به تنهایی بوده و اثر تقویتی و افزایشی بر روی یکدیگر ندارند. در خصوص ترکیب عصاره آبی اسپند با آنتی بیوتیک های آمپی سیلین و اریتروماisin نیز هیچگونه تاثیر جمع شوندگی یا سینرژیسم مشاهده نشد. نتایج فوق نشان می دهند که عصاره گیری دانه های اسپند با الکل اتانول، احتمالاً می تواند مواد ضد باکتری این گیاه را بهتر از عصاره گیری با آب استخراج نموده و به همین دلیل مقادیر MIC عصاره الکلی پایینتر از MIC عصاره آبی است ضمن اینکه اثرات سینرژیسم و جمع شوندگی آنتی بیوتیک ها

خصوص استخراج و خالص سازی ترکیبات موثر در عصاره این گیاه و بررسی اثرات درمانی یا عوارض جانبی احتمالی آن در شرایط بدن موجود زنده، می تواند گامی در جهت استفاده از داروهای گیاهی به عنوان مکمل و یا جایگزین آنتی بیوتیک های رایج محسوب شود.

نیز با عصاره الکلی بیشتر از عصاره آبی صورت گرفته است. در خاتمه، نتایج تحقیق اخیر نشان داد که عصاره دانه های گیاه اسپند می تواند اثر ضد باکتریایی مناسبی را بر علیه / سترپتوکوکوس سالنگوینیس، یکی از مهمترین گونه های ساکن در دهان افراد نشان دهد. عصاره الکلی این گیاه همچنین می تواند با آنتی بیوتیک کلیندامایسین اثر سینرژیسم داشته باشد. انجام تحقیقات بیشتر در

References

1. Albandar JM, Brunelle JA, Kingman A. Destructive periodontal diseases in adults 30 years of age and older in United States 1988-1994. *Journal of Periodontal*. 1998; 70: 13-29.
2. Baron EJ, Finegold SM. *Diagnostic microbiology*. 8th edition, C.V.Mosby Company. 1990; 363-380.
3. Pramesti H. *Streptococcus sanguinis* as an opportunistic bacteria in human oral cavity: Adherence, colonization, and invasion. *Padjadjaran Journal of Dentistry* 2017; 28(1): 45-52.
4. Palik S, Senty L, Das S, et al. Identification of virulence determinants for endocarditis in *Streptococcus sanguinis* by signature-tagged mutagenesis. *Infection and Immunity*. 2005; 73(9): 6064-6074.
5. Yeo BK, Lim LP, Paquette DW, et al. Periodontal disease: the emergence of a risk for systemic conditions : pre term low birth weight. *Annals Academy of Medicine Singapore*. 2005; 34(1): 111-6.
6. Rautemaa R, Lauhio A, Cullinan MP, et al. Oral infections and systemic disease an emerging problem in medicine. *Clinical Microbiology and Infection*. 2007; 13(11): 1041-7.
7. Alanis AJ. Resistance to antibiotics: are we in the post antibiotic era. *Archives Med Res*. 2005; 36(6): 697-705.
8. Abdel-Aziz HG, Abdel-kader SM, El-Sayed MM, et al. Novel carboline alkaloid form *Peganum harmala* as antibacterial agents. *Tenth Radiation Physics and Protection Conference*. 2010; 27-30.
9. Nebigil C. Characterization of antioxidant and antimicrobial isolates from *Quercus brantii* L. extract. *Bulletin of Environment, Pharmacology and Life Sciences*. 2011; 3: 14-16.
10. Basri DF, Fan SH. The potential of aqueous and acetone extracts of galls of *Quercus infectoria* as antibacterial agents . *Indian Journal of Pharmacology*. 2005; 37(1) 26-29.
11. Minan YH, Al-Izzy A. Antimicrobial effects of aqueous and alcoholic extract of *Peganum harmala* L. seeds on two types of salivary isolated microorganisms in Al-Ramadi City. *Journal of King Abdulaziz University Medical Sciences*. 2010; 17(4) 3-17.
12. Weinstein MP, Patel JB, Campeau Sh. *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*. CLSI. M100, 28th ed. 2018; 38(3).
13. Silva DM, Costa PA, Ribon AOB, et al. Plant extracts display synergism with different classes of antibiotics. *An Acad Bras Cienc* 2019; 91: e20180117. DOI 10.1590/0001- 3765201920180117
14. Gani O, Aisen B, Yasemin Z, et al. Synergy tests by E-Test and checkerboard methods of antimicrobial combinations against *Brucella melitensis*. *Journal of clinical Microbiology*. 2005; 43(1): 140-143.
15. Mohammadi-Sichani M, Karbasizadeh V, Chaharmiri Dokhaharani S. Effect of Oak galls extracts on *Streptococcus mutans* growth and biofilm formation. *Journal of Mazandaran University Medical Sciences*. 2015; 25(121): 161-171.
16. Erickson PR, Herzberg MC. Emergence of antibiotic resistant *Streptococcus sanguis* in dental plaque of children after frequent antibiotic therapy. *Pediatric Dental journal*. 1999; 21(3):181-5.

Seyed Mohammad Mehdi
Mahmoodi^{1*}, Farahnaz
Javanmardi²

¹-Assistant Professor,
Department of Microbiology,
Faculty of Basic Sciences,
Kazerun Branch, Islamic Azad
University, Kazerun, Iran

²-Assistant Professor,
Department of Biology,
Faculty of Basic Sciences,
Kazerun Branch, Islamic Azad
University, Kazerun, Iran

Study of antibacterial effect of *Peganum harmala* extract on *Streptococcus sanguinis* and study of its synergistic effect with some common antibiotics

Received: 4 Mar 2022 ; Accepted: 29 Aug 2022

Abstract

Background: Today, the main strategy for the treatment of bacterial infections is the use of antibiotics, but due to side effects and increased antibiotic resistance, the use of complementary or alternative methods to treat infectious diseases has become particularly important.

Methods: Aqueous and alcoholic extracts of *Peganum harmala* seeds were prepared by soaking method. The MIC and MBC of the extracts were determined for one strain of *Streptococcus sanguinis*. The synergistic effect of the produced extracts with the antibiotics ampicillin, erythromycin and clindamycin was also investigated.

Results: The results of this study showed that aqueous extract of *Peganum harmala* in concentrations of 1250 and 2500 µg / ml, and alcoholic extract of this plant in concentrations of 625 and 1250 µg / ml have inhibitory and lethal effect on the studied bacteria, respectively. In the study of the phenomenon of synergism between aqueous and alcoholic extracts with the studied antibiotics, which was done by the checkerboard method, it was found that the alcoholic extract of this plant has synergistic effect with the antibiotic clindamycin.

Conclusion: Alcoholic extract of *Peganum harmala* seeds can show a good antibacterial effect against *Streptococcus sanguinis*, one of the important species living in the mouth and the cause of endocarditis. Further research on the extraction and purification of effective compounds from this plant and the study of therapeutic effects or its possible side effects in the living organism, can be a step towards the use of herbal medicines as a supplement or alternative to common antibiotics.

Keywords: *Peganum harmala*, aqueous extract, alcoholic extract, Synergism

*Corresponding Author:

Assistant Professor,
Department of Microbiology,
Faculty of Basic Sciences, Kazerun Branch,
Islamic Azad University,
Kazerun, Iran

09177044800
mm.mahmoodi@iau.ac.ir