بررسی اثر ضدمیکروبی عصاره اتانولی سیر (*Allium Sativum*) بر روی سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف

محمد بکائیان[۱]، راضیه فرازمند[۲]، سمانه کی قبادی[۳] و سعیده سعیدی[۴*]

[۱] زاهدان، دانشگاه علوم پزشکی زاهدان، مرکز تحقیقات عفونی و گرمسیری

[۲] مشهد، دانشگاه پیام نور مشهد، گروه بیوشیمی

[۳] زابل، دانشگاه ملی زابل، گروه ژنتیک

[۴] زابل، دانشگاه ملی زابل، پژوهشکده زیست فناوری (بیوستر)

تاریخ دریافت: ۹۱/۵/۴ تاریخ پذیرش: ۹۲/۹/۲۹

چکیده

مقاومت آنتی‌بیوتیکی زمینه را برای جایگزین نمودن روش‌های درمانی گیاهی دارای عوارض جانبی کمتر نسبت به داروهای رایج فراهم نموده است. این مطالعه نیز به‌منظور بررسی اثر ضد باکتریال عصاره اتانولی سیر علیه سویه‌های بالینی استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به آنتی‌بیوتیک انجام شد. عصاره‌گیری سیر با استفاده از دستگاه تقطیر در خلأ (روتاری) انجام شد. ۱۷ نمونه استافیلوکوکوس اورئوس از نواحی حلق و بینی افراد بستری در بیمارستان امیرالمؤمنین زابل و افراد غیر بیمارستانی جدا شده و در نهایت MIC (حداقل غلظت بازدارندگی) و MBC (حداقل غلظت کشندگی) عصاره گیاه سیر به روش میکروتیتر پلیت بر روی استافیلوکوکوس اورئوس بررسی شده است. نتایج نشان داد که استافیلوکوکوس اورئوس‌های جدا شده به‌ترتیب مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌های پنی‌سیلین (۸۸/۲٪)، اریترومایسین (۸۲/۴٪)، سفکستین (۸۲/۴٪)، تری متوپریم (۷۰/۶٪)، آمپی سیلین (۷۰٪)، سفتازیدیم (۲۹/۴٪)، تتراسیکلین (۲۳/۵٪)، سفتریاکسون (۲۳/۵٪) و آمیکاسین (۵/۹٪) بودند. همچنین عصاره گیاهی سیر در غلظت ۱/۲۵ میلی‌گرم بر میلی لیتر دارای بیشترین اثر مهاری روی رشد استافیلوکوکوس اورئوس است که در این میان غلظت ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر میلی لیتر دارای بیشترین اثر کشندگی می‌باشند.

واژه‌های کلیدی: استافیلوکوکوس اورئوس، مقاومت آنتی‌بیوتیکی، سیر، حداقل غلظت مهارکنندگی

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۵۴۱۲۵۱۴۹۷۴، پست الکترونیکی: s.saeedi12@yahoo.com

مقدمه

یکی از مشکلات بزرگی که طب جدید با وجود امتیازهای ظاهری نسبت به طب سنتی با خود به ارمغان آورده، مصرف روزافزون داروهای شیمیایی است که متأسفانه روزبه روز شکل حادتری به خود می‌گیرد و در این میان گسترش روزافزون مقاومت آنتی‌بیوتیکی نسبت به گونه‌های استافیلوکوکوس اورئوس یکی از معضلاتی است که پزشکان با آن سروکار دارند. استافیلوکوکوس اورئوس از سالهای بسیار دور به‌عنوان یکی از پاتوژنهای مهم انسانی شناخته شده است. عفونتهای ناشی از این باکتری به صورت دائمی و مکرر در بیماران بستری شده روی می‌دهند (۱۶) و با وجود درمان آنتی بیوتیکی عوارض شدیدی از خود به جای می‌گذارند. استافیلوکوکوس اورئوس یک باکتری گرم مثبت است که در پوست رشد و نمو می‌کند و در قسمت ابتدایی بینی ۲۵ تا ۳۰ درصد افراد بدون نشانه‌های بالینی مشخص وجود دارد و به‌عنوان مهمترین مخازن گسترش آلودگی شناخته می‌شود. این باکتری در ایجاد طیف وسیعی

از بیماریها ازجمله اندوکاردیت، استئومیلیت، پنومونی، سندروم شوک توکسیک و کورک یا دمل نقش دارد (۱۸). فرایند مقاومت باکتری ها نسبت به آنتی بیوتیکهای شیمیایی توانایی پزشکان را در درمان بعضی از بیماریهای عفونی که اغلب مرگبار هستند محدود نموده است. مرگ و میر ناشی از عفونت‌های بیمارستانی که سالانه تنها عامل چهل هزار مرگ در ایالات متحده است تقریبا ناشی از همین افزایش مقاومت باکتریایی نسبت به آنتی‌بیوتیک‌هاست (۲۲). مطالعه گیاهان دارویی به‌منظور کشف روش‌های درمانی جدید که دارای عوارض جانبی کمتر و ارزش اقتصادی بالاتری می‌باشند در سطح جهان اهمیت خاصی پیدا کرده است. براساس گزارش‌های منتشر شده در حال حاضر بیش از ۳۰ درصد داروهای گیاهی در بیمارستان‌ها و کلینیک‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرند. سیر یا Garlic با نام علمی *Allium Sativum* گیاهیست متعلق به خانواده لیلیاسه که بومی آسیای میانه است، این گیاه از قرن‌ها قبل به‌عنوان ادویه و چاشنی غذا و نیز به‌عنوان دارو در طب گیاهی در درمان انواع مختلف بیماری‌ها استفاده می‌شده است. سیر دارای ترکیبات آلی گوگرددار است که بسیار واکنش‌پذیرند و خاصیت ضدمیکروبی وسیع بر روی باکتری‌ها حتی در غلظت‌های بسیار پایین دارند. آلیسین یا دی آلیل دی سولفیداکسید مهمترین ترکیب گوگردی سیر با فعالیت ضدمیکروبی است (۹۱). در مصر از سیر برای درمان تصلب شریان، فشار خون بالا، تقویت سیستم ایمنی و برای جلوگیری از سرطان استفاده می‌شده است (۲۳). همچنین سیر دارای خواص ضدمیکروبی، ضدقارچی، ضدویروسی و خلط‌آور نیز می‌باشد. هدف از این تحقیق بررسی اثر ضد میکروبی عصاره اتانولی سیر علیه جدایه‌های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف می‌باشد.

مواد و روشها

تهیه عصاره: برای تهیه عصاره از روش ماسیراسیون (خیساندن) استفاده شد. بدین منظور پس از خرد کردن میوه سیر، ۵۰ گرم از نمونه به مدت ۴۸ ساعت در متانول ۸۰ درصد خیس و نگهداری گردید. سپس عصاره بدست آمده با کاغذ صافی صاف و با استفاده از دستگاه تقطیر در خلأ (روتاری) تغلیظ شد.

تعیین وزن خشک عصاره: ابتدا وزن یک لوله آزمایش تعیین و یک میلی لیتر از عصاره استخراج شده به درون آن منتقل شد. سپس لوله حاوی عصاره در دمای اتاق خشک گردید. اختلاف وزن لوله معادل یک میلی لیتر از عصاره بود. میانگین سه بار تکرار به‌عنوان وزن خشک عصاره محاسبه شد و بعد در حلال DMSO حل شده و تا زمان استفاده در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید (۲).

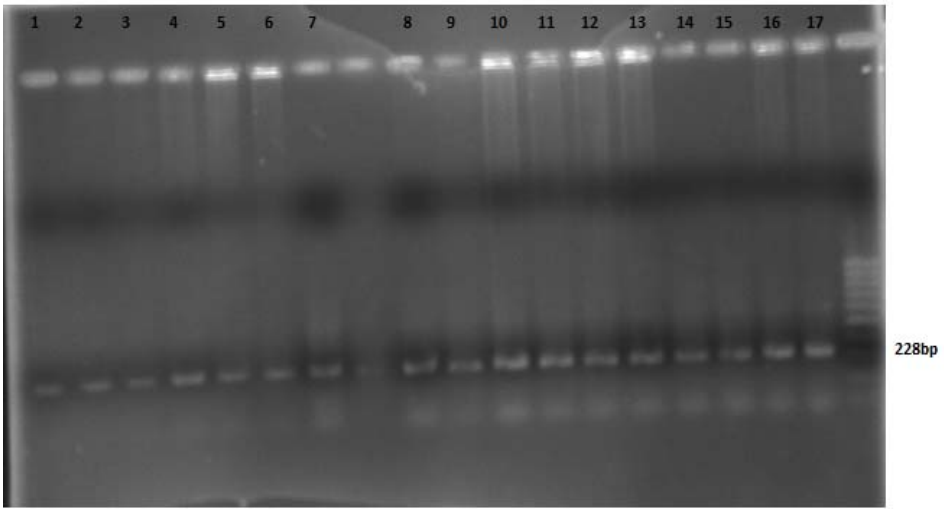
سویه‌های باکتری: سویه‌های مختلف استافیلوکوکوس اورئوس مورد مطالعه در این تحقیق از ناحیه حلق و بینی بیماران بستری در بیمارستان امیرالمؤمنین زابل و افراد غیر بیمارستانی جداسازی گردید و بر روی محیط‌های کشت بلاد آگار کشت داده شدند. سویه‌های خالص به‌دست آمده بر روی محیط کشت با استفاده از آزمون‌های کاتالاز و رنگ‌آمیزی گرم در حد جنس شناسایی و در نهایت با انجام آزمون کوآگولاز به روش لوله‌ای و لامی و بررسی تشکیل آگلوتیناسیون، همچنین تخمیر مانیتول مثبت گونه *استافیلوکوکوس اورئوس* تعیین هویت شدند و برای اطمینان از پرایمر **۱۶srDNA** نیز استفاده شده است (۱۵) (جدول۱، شکل ۱).

تهیه سوسپانسیون نیم مک فارلند: برای تهیه سوسپانسیون میکروبی، ابتدا ۲۴ ساعت قبل از انجام آزمایش، باکتری از کشت ذخیره به محیط کشت شبیدار نوترینت آگار مغذی (مرک آلمان) تلقیح شد. پس از رشد کلنی های باکتری، سطح محیط کشت را با محلول نرمال سالین شسته و سوسپانسیون غلیظ میکروبی حاصل گردید. سپس مقداری از سوسپانسیون باکتری، داخل لوله استریل درب دار حاوی

نرمال سالین ریخته شده و کدورت آن با اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۳۰ نانومتر اندازه‌گیری شد و تا هنگام برابر شدن کدورت محلول با کدورت محلول نیم مک فارلند، با نرمال سالین رقیق و سوسپانسیون باکتری با غلظت 1×10^{8}cfu/ml تهیه گردید.

جدول ۱- توالی نوکلوتیدی مورد استفاده برای شناسایی استافیلوکوکوس اورئوس

۲۲۸Bp	GTAGGTGGCAAGCGTTACC	۱۶srDNA F
	CGCACATCAGCGTCAG	۱۶srDNA R



شکل۱- PCR برای ژن ۱۶ srDNA

آزمون حساسیت میکروبها نسبت به آنتی بیوتیکها: حساسیت ۱۷ سویه خالص شده از گونه استافیلوکوکوس اورئوس به آنتی بیوتیک‌های تری متوپریمSXT، آمپی سیلین AM، سفتازیدیم GAZ، تتراسیکلین TE، اریترومایسینE، پنی سیلین P، سفتریاکسون CRO، آمیکاسین AN و سفکستین CF که از شرکت پادتن طب ایران تهیه شده بودند با استفاده از روش استاندارد دیسک دیفیوژن کربی- بائر مورد ارزیابی قرار گرفت. بدین منظور در ابتدا از تمام سویه های باکتری، غلظت نیم مک فارلند (1×10^{8}cfu/ml) در محیط آبگوشتی مولر هینتون تهیه و بعد بر روی محیط مولر هینتون آگار پخش و کشت داده شدند. سپس دیسکهای آنتی بیوتیکی بر روی محیط مولر هینتون آگار حاوی باکتری در نزدیکی لبه پلیت قرار داده شدند. پلیت ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد در انکوباتور قرار داده شدند و قطر هاله های مهاری برای تعیین مقاومت و حساسیت سویه ها نسبت به آنتی بیوتیک های مورد نظر اندازه‌گیری شدند و نتایج آن با جدول استاندارد NCCLS مقایسه شد.

آزمون ضدمیکروبی عصاره: حساسیت جدایه های باکتری دارای مقاومت چندگانه نسبت به عصاره گیاهی سیر با استفاده از روش رقت سازی در چاهک بررسی شد. به هفت چاهک از پلیت های میکروتیتر میزان ۱۰۰ میکرولیتر از محیط مایع مغذی مولر هینتون (MHB) اضافه شد. سپس به چاهک اول ۱۰۰ میلی لیتر از محلول رقیق شده عصاره اضافه شده و پس از مخلوط کردن ۱۰۰ میکرولیتر از چاهک اول برداشته به چاهک دوم اضافه کرده، بدین ترتیب تا آخرین چاهک این کار انجام داده

شد. از چاهک آخر ۱۰۰ میکرولیتر محیط کشت خارج کرده و مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون میکروبی حاوی 10^7 واحد در میلی لیتر معادل ۰/۵ مک فارلند اضافه شده و در انکوباتور در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفت. اولین چاهکی که از رشد باکتری پس از قرار دادن در انکوباتور جلوگیری کرده است به‌عنوان (MIC) در نظر گرفته شد و برای اطمینان از چاهک های شفاف ۱۰ میکرولیتر برداشته به محیط مولر هینتون آگار منتقل کرده و پس از ۲۴ ساعت اولین رقتی که توانسته ۹۹/۹ درصد باکتری را از بین ببرد به‌عنوان حداقل غلظت کشنده نشان داده شد (۲).

نتایج

الگوی حساسیت آنتی بیوتیکی: حساسیت سویه های استافیلوکوکوس اورئوس های جدا شده نسبت به ۹ آنتی بیوتیک مورد ارزیابی قرار گرفت. همه سویه های استافیلوکوکوس اورئوس به هر ۹ آنتی بیوتیک به ترتیب پنی سیلین (۸۸/۲٪)، اریترومایسین (۸۲/۴٪)، سفکستین (۸۲/۴٪)، تری متوپریم (۷۰/۶٪)، آمپی سیلین(۷۰٪)، سفتازیدیم (۲۹/۴٪)، تتراسیکلین (۲۳/۵٪)، سفتریاکسون (۲۳/۵٪) و آمیکاسین(۵/۹٪) مقاوم بودند (جدول ۲).

جدول ۲- الگوی حساسیتی سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها (٪)

	تری متوپریم	آمپی سیلین	سفتازیدیم	تتراسیکلین	اریترومایسین	پنی سیلین	سفتریاکسون	آمیکاسین	سفکستین
R	۷۰/۶	۷۰	۲۹/۴	۲۳/۵	۸۲/۴	۸۸/۲	۲۳/۵	۵/۹	۸۲/۴
S	۲۳/۵	۱۷/۶	۵۲/۹	۲۹/۴	۵/۹	۵/۹	۵/۹	۹۴/۱	۱۱/۸
I	۵/۹	۱۱/۸	۱۷/۶	۴۷/۱	۱۱/۸	۵/۹	۷۰/۶	۰	۵/۹

R: Resistant S: Sensitive I: Intermediate

بیشترین و کمترین غلظت عصاره: اثر ضد باکتریایی عصاره گیاهی سیر در غلظت های مختلف نشان داد که با وجود مقاومت نسبی اکثر سویه ها در غلظت های مورد استفاده، بیشترین حساسیت در غلظت **های** ml /mg۱۰ **و** ml /mg۵ می‌باشد؛ به طور تقریبی بیشترین MIC (حداقل غلظت باز دارندگی) در غلظت ml /mg ۱/۲۵ عصاره سیر می‌باشد که ده سویه استافیلوکوکوس اورئوس در این غلظت مهار شده‌اند (جدول های۳ و ۴). در حالی که به طور تقریبی بیشترین MBC (حداقل غلظت کشندگی) در غلظت های ml /mg ۱۰ **و** ml /mg۵ عصاره سیر می باشد که ۱۰۰ درصد باکتری‌ها از بین رفته اند و چهار سویه استافیلوکوکوس اورئوس در غلظت ۰/۳ میلی گرم بر میلی لیتر کاملا از بین رفته هستند (جدول ۳).

جدول ۳- الگوی بازدارندگی سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس در غلظت‌های مختلف عصاره (mg/ml)

شماره	۰/۳	۰/۶۲	۱/۲۵	۲/۵	۵	۱۰
۱	–	–	–	–	–	–
۲	++	++	+	–	–	–
۳	++	++	+	–	–	–
۴	++	++	+	–	–	–
۵	++	++	+	–	–	–
۶	–	–	–	–	–	–
۷	++	++	+	–	–	–
۸	–	–	–	–	–	–
۹	++	++	+	–	–	–
۱۰	++	++	++	+	–	–
۱۱	++	++	+	–	–	–
۱۲	–	–	–	–	–	–
۱۳	++	++	+	–	–	–
۱۴	++	++	+	–	–	–
۱۵	++	++	+	–	–	–
۱۶	++	++	++	+	–	–
۱۷	++	++	++	+	–	–

++ نشان دهنده رشد بسیار زیاد میکرواورگانیسم + نشان دهنده رشد کم میکرواورگانیسم – نشان دهنده عدم رشد میکرواورگانیسم

جدول ۴- الگوی حساسیتی سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس نسبت به رقت‌های مختلف عصاره سیر بر حسب درصد (٪)

	۰/۳mg/ml	۰/۶۲mg/ml	۱/۲۵mg/ml	۲/۵mg/ml	۵mg/ml	۱۰mg/ml
MIC	۰	۰	۵۸/۸۲	۱۷/۶۴	۰	۰
MBC	۲۳/۵۲	۲۳/۵۲	۲۳/۵۲	۸۲/۳۵	۱۰۰	۱۰۰

بحث

آنتی بیوتیک ها داروهای ارزشمندی برای درمان بسیاری از بیماریهای انسانی می باشند، با این حال استفاده بیش از حد این داروها مقاومت های میکروبی را درپی خواهد داشت. بنابراین دانشمندان تحقیقات بر روی قسمت های مختلف گیاهان دارویی، برای کشف داروهای جدید با منشأ گیاهی را در اولویت قرار داده اند (۱۲). در این بررسی اثر عصاره اتانولی سیر بر روی سویه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک استافیلوکوکوس اورئوس که جزء بیمارگرهای عمده بیمارستانی بوده و سیر مقاومت آنها به انواعی از آنتی‌بیوتیک‌ها رو به افزایش است، مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که استافیلوکوکوس اورئوس های جدا شده به ترتیب مقاوم به آنتی بیوتیکهای پنی سیلین(۸۸/۲٪)، اریترومایسین(۸۲/۴٪)، سفکستین(۸۲/۴٪)، تری متوپریم (۷۰/۶٪)، آمپی سیلین (۷۰٪)، سفتازیدیم (۲۹/۴٪)، تتراسیکلین(۲۳/۵٪)، سفتریاکسون(۲۳/۵٪) و آمیکاسین(۵/۹٪) بودند. در مطالعه ای که در کاشان انجام شده، از ۷۶ نمونه مورد بررسی، میزان مقاومت به اگزاسیلین (۹۶/۱٪)، کلوگزاسیلین (۶۳/۲٪)، سفالوتین(۲۳/۷٪) و ونکومایسین(۱۸/۴٪) به‌دست آمده است (۳). در مطالعه ای دیگر که در بیمارستان قائم مشهد انجام شده، از ۱۰۰ نمونه استافیلوکوکوس اورئوس مورد بررسی، میزان مقاومت به پنی سیلین (۹۷٪)، اگزاسیلین(۶۳٪)، اریترومایسین(۵۷٪)، سفالکسین(۴۳٪)، کلیندامایسین(۳۳٪) و ونکومایسین(۲۰٪) به‌دست آمده است (۴). در مطالعه یادگار و همکاران، از ۱۰۰ نمونه مورد بررسی، میزان مقاومت به پنی سیلین(۱۰۰٪)، کانامایسین(۶۸٪)، تتراسیکلین(۶۱٪)، اریترومایسن(۵۶٪)، توبرامایسن(۵۳٪)، جنتامایسین(۵۲٪) و آمیکاسین(۴۸٪) به دست آمده است(۷) که میزان مقاومت در مطالعه ما کمتر از مطالعات موجود می باشد که احتمالا به علت استفاده کم آنتی‌بیوتیک در شهرستان زابل می باشد. نتایج حاصل از بررسی عصاره الکلی سیر حاکی از این است که عصاره الکلی این گیاه روی سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به آنتی‌بیوتیک دارای اثر قابل ملاحظه‌ای می باشد. به طوری که بیشترین اثر مهارکنندگی در غلظت ۱/۲۵ میلی گرم بر میلی لیتر بوده است. در مطالعه okoye و همکاران نتایج نشان داد عصاره گیاهی سیر دارای اثر ضدمیکروبی بالایی علیه *Ecoli* با قطر هاله مهاری (۳۵mm–۱۷) و *Staphylococcus aureus* با قطر هاله مهاری (۳۰mm–۱۶) است، همچنین حداقل غلظت مهارکننده (MIC) برای باکتری *Ecoli* (۳۰mg/ml) و برای *S.aureus* (۵۰mg/ml) است (۱۷). در مطالعه مجنونی و همکاران نتایج نشان داد که حداقل غلظت مهارکننده (MIC) عصاره گیاهی سیر برای استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به ونکومایسین ۲۵۶mg/ml است(۶). همچنین در مطالعات Sivam و همکاران (۱۹۹۷) نتایج نشان داد که حداقل غلظت مهارکننده (MIC) عصاره سیر برای استافیلوکوکوس اورئوس ۱۶۰mg/ml بوده است (۱۹). آثار ضدمیکروبی سیر بر سایر باکتری ها مانند سودوموناس آئروژینوزا(۱)، شیگلا(۵)، اشرشیاکلی انتروتوکسینوژن و حتی بر روی قارچ ها مورد ارزیابی قرار گرفته است (۲۱، ۱۱). سایوام و همکارانش نشان دادند که عصاره کلروفرمی سیر از رشد هلیکوباکترپیلوری جلوگیری می‌کند (۱۹). در مطالعه Indu غلظت ۱۰۰٪ عصاره سیر کمترین اثر مهاری بر روی سروتایپ O1 باکتری اشرشیاکلی داشته است (۱۸mm) و

همین غلظت بیشترین اثر مهارکنندگی را بر روی سروتایپ O22 و O25 باکتری اشرشیاکلی داشته است (۳۰mm)(۱۳). در مطالعه ای دیگر که توسط Cutler انجام شد، نتایج نشان داد که عصاره سیر در غلظت ۱۶µg/ml بیشترین MIC (حداقل غلظت مهارکنندگی) و در غلظت ۱۲۸µg/ml (حداقل غلظت کشندگی) داشت، به‌طوری‌که بیشترین MBC را بر روی سویه های بالینی استافیلوکوکوس اورئوس داشته است(۱۰). در مطالعه Iwalokun و همکاران، میانگین قطر هاله مهار رشد عصاره آبی سیر در باکتری های گرم مثبت، بین ۲۰/۲ تا ۲۱/۸ گزارش شده است(۱۴). براساس مطالعه علی پور یگانه، حداقل عصار حاصل از پودر سیر بر باکتری های سالمونلا و شیگلا، ۱۲/۵ بوده است (۸). این نتایج کمی با نتایج مطالعه ما متفاوت است که احتمال می رود به دلیل روش عصاره‌گیری متفاوت و یا روش کار متفاوت باشد. در مطالعه ای دیگر عصاره اتانولی سیر مهارکننده قوی اشرشیاکلی با قطر هاله مهاری ۵۱ میلی‌متر می باشد(۶)، همچنین Taura فعالیت ضدمیکروبی عصاره اتانولی سیر را در برابر بعضی از باکتری های گرم منفی گزارش کرده است(۲۰). در مجموع نتایج این پژوهش نشان داد که سیر این قابلیت دارد که به‌عنوان یک داروی ضدمیکروبی به خصوص برای درمان بیماریهای ناشی از استافیلوکوکوس اورئوس مورد استفاده قرار بگیرد. هرچند آزمایشهای کلینیکی بر روی بیماران بعد از مصرف عصاره گیاهی سیر برای تأیید این داده ها توصیه می شود تا در نهایت بتوان آن را در رده داروهای گیاهی فرموله شده در داروخانه در دسترس بیماران قرار داد.

منابع

۱- حسامی، ش. ۱۳۷۸.بررسی تغییرات مرفولوژی و بیوشیمیایی سودوموناس آئروژینوزا در مجاورت عصاره کلروفرمی حاوی آلیسین. پایان نامه کارشناسی ارشد باکتری شناسی، دانشکده علوم پزشکی ، دانشگاه تربیت مدرس.

۲- سعیدی، س.، صباغ، س.ک.، صبوری رباط، الف. ۱۳۹۲.بررسی فعالیت ضدمیکروبی اسانس و عصاره گیاه مورد علیه سویه های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به آنتی بیوتیکهای انتخابی. مجله علوم پزشکی زابل . (۳)۴: ۲۱-۳۲.

۳. شجری، ع.، منیری، ر.۱۳۸۱. بررسی الگوی حساسیت و مقاومت آنتی بیوتیکی استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از نمونه های ارسالی به آزمایشگاه مرکزی کاشان. فصلنامه علمی پژوهشی فیض. (۲۳)۳، ۳۱-۳۶.

۴- صفدری، ه.، صادقیان، ع.، تحققی، س. ۱۳۹۱.الگوی مقاومت استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده، به آنتی بیوتیکهای رایج در بیمارستان قائم مشهد در سال ۱۳۹۰. مجله علوم پیرا پزشکی و توان بخشی مشهد. (۱)۱، ۴۶-۴۳.

۵- صابری نجفی، م.۱۳۷۵. بررسی اثر عصاره کلروفرمی حاوی آلیسین سیر در توکسین زایی شیگلاهای انتروپاتوژن. پایان نامه کارشناسی ارشد باکتری شناسی. دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس.

۶. مجنونی، م.، عبیری، ر.، عفنان زاده، ن.، خطابی، م. ۱۳۹۰.بررسی اثرات ضدباکتریایی عصاره هیدروالکلی ۸ گیاه دارویی بر ضد استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به وانکومایسین. فصلنامه گیاهان دارویی.(۱)۸.

۷- یادگار، ع.، ستاری، م.، ، ن.، گودرزهی، غ. ۱۳۸۸.بررسی شیوع ژن ant(4)-Ia در میان ایزوله های بالینی استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی سیلین به روش Multiplex- PCR. مجله علوم پزشکی مدرس. (۱)۵۹،۱۲-۶۸.

8. Aliporyegane, M., Tajik, H., Zadehashem, E.2008. Inhibitory effect of garlic extract on the growth of Salmonella typhimurium and Shigella dysenteric. Knowledge Health. 4(2): 6-9.

9.Block, E.1992. The organosulfur chemistry of the genus Allium implication for the organic chemistry of sulfur. Angew Chem. Internal . Edit. 31(9):1011-1264.

10. Cutler, R.R., Wilson, P.2004. Antibacterial activity of new, stable, aqueous extract of allicin against methicillin-resistant Staphylococcus aureus. British Journal Of Bromedical Science. 6(2):1-4.

11- Formtling, R.A., Balmer, G.S.1978. In vitro effect of aqueas extract of garlic(Allium

Sativum)on the growth and viability of Cryptococcus neoformans. Mycolo. 70: 397-405.

12. Islam, S., Rahman, A., Sheikh, M.I., Rahman, M., Jamal, A.H.M., Alam, F.2010. *In vitro* antibacterial activity of methanol seed extract of *elettaria cardamomum* (L.) maton. Agri Conspec Sci. 75(3): 113-7.

13.Indu, M.N., Hatha, A.A.M., Abirosh, C., Harsha, U., Vivekanandan, G.2006. Antimicrobial activity of some of the south-indian spices against serotypes of E. coli, Salmonella, Listeria monocytogens and Aeromonas hydrophila. Brazillian Journal Of Microbiology. 37:153-158.

14. Iwalokun, B.A., Ogunledun, A., Ogbolu, D.O.2004. In vitro antimicrobial properties of garlic extract against multidrug-resistant bacteria and *Candida* species from Nigeria. J Med Food. 7(3): 327-333

15. Løvseth, A., Loncarevic, S., Berdal, K.G. 2004. Modified multiplex PCR method for detection of pyrogenic exotoxin genes in staphylococcal isolates. J Clin Microbiol. 42: 3869–3872

16.Marjolein, F. Q. Vandenbergh, E.D. P., Yzerman, F., Alex, V., Helene, A., Boelens, M. 1999. Follow-Up of S.aureus Nasal Carriage after 8 Years: Redefining the Persistent Carrier State. Journal of Clinical Microbiology. 37(10):3133-3140.

17. Okoye, Afamefuna L.2010. In Vitro Determination of Bactericidal Effects of Garlic (*Allium sativum*) on *Staphylococcus aureus* and *Escherichi coli*. Nigerian Journal of Scinece, Technology and Environmental Education (NIJOSTEE). 3(1).

18.Shopsin, B., Kreiswirth, B.2001. Molecular epidmiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Emerging infectioud Disease Journal.7(2):323-6.

19. Sivam, G.P., Lampe, J.W., Ulness, B., Swanzy, S.R., Potter, J.D 1997. Helicobacter pylori-*in vitro* susceptibility to garlic (*Allium sativum*) extract. Nutr. Cancer. 27:118-121.

20. Taura, D. W., Okoli, A. C. and Bichi, A. H. 2004. Invitro antibacterial activity of ethanolic extract of *Anona cosmosus (L.), Allium sativum (L.)* and *Aloe barbadensis (L.)* in Comparison with Ciprofloxin. Journal of Research and Production. 4(4): 196-201.

21- Weber, N.D., Andersoen, D.O, North, J.A.1992. In vitro virucidal effects of Allium Sativum(garlic) extract and componds. Planta. Med. 58,417-423.

22.Wright, G.D. 2000. Resisting resistance; new chemical strategies for battling superbugs. chemistry biology . 7: 127-132.

23.Yusha, U.M., Garba, L., Shamsudeen, U.2008. In vitro inhibitory activity of garlic and ginger extracts on some respiratory tract isolates of gram- negative organisms. International journal of Biomedical and Health Sciences.4(2): 57-60

Study of the antimicrobial activity of *Allium Sativum* extract on *Staphylococcus aureus* strains resistant to different antibiotics

Bokaeian M.[1], Farazmand R.[2], Kyghobadi S.[3] and Saeidi S.[4]

[1] **Infectious Diseases and Tropical Medicine Research Center, Zahedan University of Medical Sciences, Zahedan, I.R. of Iran**

[2] **Biochemistry Dept., Payame Noor University, Mashhad, I.R. of Iran**

[3] **Genetics Dept., University of Zabol, Zabol, I.R. of Iran**

[4] **Agricultural Biotechnology Research Institute, Zabol University, Zabol, I.R. of Iran**

Abstract

Antibiotic resistance has prompted the use of medicinal plants with less side effects instead of common drugs. The present study was done to investigate antibacterial effects of garlic ethanolic extract against antibiotic resistant Staphylococcus aureus strains isolated from nasopharyngeal samples. Extraction was done using vacuum distillation (rotary). A total of 17 Staphylococcal strains were isolated from nasopharyngeal swabs of in- and outpatients in Ali-Ebne-Abitaleb hospital (in Zabol). Antibiotic resistance was determined using Kirby Bauer method and minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) of garlic extract was determined using antimicrobial susceptibility testing - microbroth dilution. Antibiotic resistance of the isolates was as follow: Penicillin (88.2%), Erythromycin (82.4%), Cefoxitin (82.4%), Trimethoprim (70.6%), Ampicillin (70.0%), Ceftazidime (29.4%), Tetracycline (23.4%), Ceftriaxone (23.5%), and Amikacin (5.9%). The MIC and MBC for garlic extract were 1.25 and 5 mg/ml respectively. Garlic extract has high anti-staphylococcal effects compared to common antibiotics and could be used as a beneficial medicinal plant. However, more studies to make sure of its medical effects before wide medical usage is required.

Key words: *Staphylococcus aureus*, antibiotic resistance, *Allium Sativum*, minimum inhibitory concentration