

مقایسه اثرات ضد میکروبی عصاره گیاهان بادرنجبویه و گل حنا علیه چند گونه باکتری بیماری‌زا

پریچهر حناچی^{۱*}، رویا صحت^۲، آمنه الیکایی^۳، روشنک زرین قلمی^۲

^۱ دانشیار، گروه بیوتکنولوژی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه الزهراء، تهران، ایران
^۲ کارشناسی ارشد، گروه بیوتکنولوژی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه الزهراء، تهران، ایران
^۳ استادیار، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه الزهراء، تهران، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۱/۰۹

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۹/۰۶

چکیده

مقدمه: وقوع مقاومت دارویی در برابر داروهای ضد میکروبی باعث شده است تا از گیاهان دارویی در معالجه عفونت استفاده شود. در این راستا، پژوهش حاضر به مقایسه اثرات ضد میکروبی سه عصاره (اتانول/متانولی، آبی و استونی) دو گیاه بادرنجبویه و گل حنا بر چهار گونه باکتری پرداخته است.

مواد و روش‌ها: ابتدا باکتری‌های مورد نظر شامل: *Escherichia coli*، *Staphylococcus aureus*، *Bacillus subtilis* و *Enterococcus* در محیط کشت نوترینت براث فعال گردیدند و از باکتری‌های فعال شده، سوسپانسیون معادل با نیم مک‌فارلند تهیه شد. فعالیت‌های ضد میکروبی سه عصاره اتانول/متانولی، آبی و استونی دو گیاه بادرنجبویه و گل حنا با روش استخراج خیساندن با استفاده از روش انتشار دیسکی و تعیین مقادیر MIC (Minimum Inhibitory Concentration) (حداقل غلظت مهار) و MBC (Minimum Bactericidal Concentration) (حداقل غلظت ضد باکتری) روی چهار گونه باکتری ارزیابی گردید.

یافته‌ها: نتایج نشان دادند که عصاره استونی حنا دارای بیشترین اثرات ضد میکروبی بر هر چهار گونه باکتری می‌باشد. عصاره استون و اتانول/متانول برگ حنا دارای اثرات ضد میکروبی بیشتری در مقایسه با عصاره‌های آب و اتانول/متانول برگ بادرنجبویه بر گونه *E. coli* است. در مورد باکتری *S. aureus* نیز عصاره‌های آب و اتانول/متانول هر دو گیاه تقریباً دارای اثرات MIC (حداقل غلظت مهار) و MBC (حداقل غلظت ضد باکتری) یکسانی بودند. در نهایت هر سه عصاره بادرنجبویه، اثرات ضد میکروبی بارزی را در مقایسه با هر سه عصاره برگ حنا بر دو باکتری *Enterococcus* و *Bacillus subtilis* نشان دادند.

نتیجه‌گیری: در میان عصاره‌های مورد آزمایش، عصاره استونی برگ حنا بیشترین اثر ضد میکروبی را داشت. با توجه به نتایج و افزایش مقاومت باکتری‌ها در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها پیشنهاد می‌شود با مطالعات بیشتر مانند خالص‌سازی ترکیبات پلی‌فنول از ترکیبات ضد باکتری این دو گیاه در درمان بیماری‌های عفونی استفاده کرد.

کلمات کلیدی: انتشار دیسکی، بادرنجبویه، حداقل غلظت مهار، حداقل غلظت ضد باکتری، گل حنا

مقدمه

زیر اشاره کرد: نیرودهنده و ضد تشنج، مقوی معده، بادشکن، اثر آرام‌کننده، کاهش تپش قلب، سردرد و سرگیجه، تنظیم بی‌خوابی، مفید برای هیستری و استفراغ‌های دوره بارداری، کم‌خونی، دردهای عصبی دندان، گوش درد، دردهای رماتیسمی و تأخیر وقوع قاعدگی (۴)

اشریشیا کلی (*Escherichia coli*) یا به طور اختصار *E. coli*، نوعی باسیل گرم منفی از خانواده انتروباکتریاسه است که به طور شایع در روده جانوران خون‌گرم وجود دارد. این باکتری ۱ درصد از فلور روده را به خود اختصاص داده و از طریق مسیر مدفوعی-دهانی از یک فرد به فرد دیگر منتقل می‌شود. این باکتری شایع‌ترین عامل عفونت دستگاه ادراری است که حدود ۹۰ درصد از عفونت‌های ادراری در زنان جوان را به خود اختصاص می‌دهد. علائم بالینی این عفونت به صورت تکرر ادرار، سوزش ادراری، خون در ادرار و چرک در ادرار می‌باشد (۵).

استافیلوکوکوس اورئوس (*Staphylococcus aureus*)، یک کوکسی گرم مثبت و بی‌هوازی اختیاری است که مهم‌ترین گونه در جنس *Staphylococcus* از نظر پزشکی محسوب می‌شود. این باکتری گستره وسیعی از عفونت‌ها از عفونت‌های ساده پوستی (مانند جوش‌دانه، کورک، کفگیرک، گل‌مژه و آبسه) گرفته تا بیماری‌های تهدیدکننده زندگی (مانند پنومونی، مننژیت، استنومیلیت، اندوکاردیت، سندرم شوک سمی و سپتیمی) را ایجاد می‌نماید (۶).

S. aureus یکی از پنج عامل شایع ایجادکننده عفونت‌های بیمارستانی به ویژه عفونت‌های زخم پس از جراحی است و هر سال، ۵۰۰ هزار نفر در بیمارستان‌های ایالات متحده آمریکا به عفونت‌های *S. aureus* مبتلا می‌شوند (۶).

باسیلوس (*Bacillus*) نام یک سرده از رده باسیل و از خانواده باسیلاسه است. باسیلوس‌ها گرم مثبت، میله‌ای شکل و اغلب هوازی اجباری یا بی‌هوازی اختیاری هستند و

میکروارگانسیم‌ها نقش مهمی را در ایجاد بیماری در انسان ایفا می‌کنند. مرگ و میر ناشی از این عوامل همواره بشر را بر آن داشته است تا به دنبال مقابله با میکروارگانسیم‌ها باشد. یکی از مهم‌ترین این روش‌ها، استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها است (۱). اثرات ضد میکروبی برخی از عصاره‌های گیاهی علیه باکتری‌های گرم مثبت و منفی مهم در مواد غذایی بررسی شده و نتایج به دست آمده، MIC (Minimum inhibitory concentration) و MBC (Minimum bactericidal concentration) علیه باکتری را نشان داده‌اند (۲). گل حنا با نام علمی *Impatiens walleriana* نام یک گونه از سرده *Impatiens* است که در شرق آفریقا از کنیا تا موزامبیک می‌روید. جنس *Impatiens* دارای ترکیبی به نام ۲-متوکسی‌او۴-نفوکینون است که این ترکیب برای گونه‌های این جنس دارای خواص ضد قارچی و ضد التهابی گزارش شده است. تمامی گونه‌های این جنس دارای مزه‌ای تلخ هستند که باعث ناراحتی‌های روده‌ای، اسهال و استفراغ می‌شوند. این مزه تلخ ممکن است به دلیل وجود آلکالوئیدها و گلیکوزیدها در این گیاه باشد. اسید چرب غیر اشباع α -پاریناریک اسید به همراه لینولئیک اسید در برخی از گونه‌های این جنس مشاهده شده است (۳). بادرنجبویه یا بادرشبی با نام علمی *Melissa officinalis* از راسته نعناسانان (Lamiales) و تیره نعناعیان (Lamiaceae) است که بین ماه‌های تیر و مرداد گل می‌دهد. رویشگاه اصلی این گیاه، بخش وسیعی از شرق مدیترانه است (۴).

قسمت مورد استفاده این گیاه، برگ‌ها و سرشاخه‌های جوان آن است که حاوی یک ماده تلخ، تانن، کامفر، قندهای مختلف، مواد رزینی، مواد پکتیکی و اسانس ملیس که مایعی بی‌رنگ با بوی مطبوع شبیه بوی لیمو است، می‌باشد. از جمله خواص درمانی این گیاه می‌توان به موارد

مطالب بیان شده، پژوهش حاضر با هدف مقایسه اثرات ضد میکروبی سه عصاره اتانول/متانولی، آبی و استونی دو گیاه بادرنجبویه و گل حنا بر چهار گونه باکتری انجام شده است.

مواد و روش‌ها

فعال‌سازی باکتری

در این مطالعه چهار گونه باکتری شامل: *Staphylococcus*, *Escherichia coli* (ATCC:25922) *Bacillus subtilis* (ATCC:8432)، *aureus* (ATCC:25923)، و *Enterococcus* (ATCC:29212) از بانک میکروبی آزمایشگاه میکروبی‌شناسی دانشگاه علوم پزشکی مشهد در سال ۱۳۹۸ تهیه گردید. برای انجام آزمایش، ابتدا باکتری درون محیط کشت نوترینت برات فعال شد و محیط حاوی باکتری به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه درون انکوباتور قرار داده شد. سپس از باکتری‌های فعال شده، سوسپانسیون نیم مک‌فارلند (در هر ۱ سی‌سی معادل نیم مک‌فارلند $10^8 \times 1/5$ سلول باکتری وجود دارد) تهیه گردید (۹).

آماده‌سازی نمونه‌های گیاهی جهت بررسی فعالیت

ضد میکروبی

عصاره خام جهت انجام آزمایش تعیین اثرات ضد میکروبی با روش خیساندن تهیه گردید. بدین منظور، ۲۰۰ میلی‌گرم از برگ گیاهان حنا و بادرنجبویه در ۵ میلی‌لیتر از حلال‌های اتانول/متانولی، آبی و استونی (شرکت Merck) قرار داده شد و به مدت یک ساعت درون بن ماری به صورت کامل عصاره‌گیری گردید. سپس نمونه‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در سانتریفیوژی (آلمان، Sigma3-16L) با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه قرار داده شدند. در نهایت، از محلول رویی برای بررسی فعالیت ضد میکروبی استفاده شد و عصاره‌های حاصل با عبور از فیلتری با قطر ۰/۲ میکرون

جنس باسیلوس شامل: باکتری‌های بزرگ و هوازی، گرم مثبت و میله‌ای که به صورت پشت سر هم قرار می‌گیرند، می‌باشد (۷). بسیاری از اعضای این جنس نظیر باسیلوس سوبتیلیس (*Bacillus subtilis*) به صورت ساپروفیت در خاک، آب و هوا و سبزیجات مشاهده می‌شوند که قادر به رشد در غذاها بوده و به وسیله تولید انتروتوکسین مولد اسهال و توکسین تهوع‌زا، ایجاد مسمومیت می‌نمایند. از جمله علائم مسمومیت با *Bacillus subtilis* می‌توان به تهوع، استفراغ و دردهای ناگهانی شکمی اشاره کرد (۷). انتروکوک (*Enterococcus*) کوکسی‌های گرم مثبتی هستند که به صورت جفت (دییلوکوک) یا زنجیره‌های کوتاه مشاهده می‌شوند. تمایز انتروکوک‌ها از استرپتوکوک‌ها از طریق ویژگی‌های ظاهری، بسیار مشکل است. دو گونه مهم هم‌زیست از *Enterococcus* در روده انسان عبارت هستند از: انتروکوکوس فکالیس (۹۰ تا ۹۵ درصد) و انتروکوکوس فاسیوم (۵ تا ۱۰ درصد). سایر گونه‌های *Enterococcus* که به ندرت ایجاد بیماری می‌کنند، عبارت هستند از: انتروکوکوس کاسلی فلاووس، انتروکوکوس گالیناروم و انتروکوکوس رافینوسوس. مهم‌ترین عفونت‌های ایجاد شده توسط *Enterococcus* نیز عفونت‌های مجرای ادراری، باکتری‌می، اندوکاردیت و مننژیت می‌باشند (۸).

از دیدگاه پزشکی، *Enterococcus* از نظر مقاومت آنتی‌بیوتیکی ذاتی اهمیت دارند. برخی از *Enterococcus* به طور ذاتی نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام (پنی‌سیلین، سفالوسپورین‌ها و کارباپنم) و آمینوگلیکوزیدها مقاوم هستند. در دو دهه گذشته، سویه‌های انتروکوکوسی مقاوم به ونکومایسین در بیماران بستری در بیمارستان‌ها افزایش یافته است. برای درمان سویه‌های مقاوم به ونکومایسین از آنتی‌بیوتیک‌هایی مانند کوئینوپریستین/دالفوپریستین (سینرسید) یا تیگسیکلین استفاده می‌شود (۸). با توجه به

داده شد. سپس محیط کشت داخل ۱۲ عدد پلیت پلاستیکی استریل به صورت مساوی تقسیم گردید و پلیت‌ها به هشت قسمت مساوی (خانه) تقسیم شدند. در ادامه، ۵۰ میکرولیتر از سری رقت‌های تهیه شده در مرحله اول (۵ قسمت از ۸ قسمت) در هر کدام از ۱۲ پلیت آماده شده در مرحله دوم ریخته شد و در خانه‌های دیگر پلیت به ترتیب ۵۰ میکرولیتر میکروب با غلظت نیم مک‌فارلند و مخلوط میکروب و عصاره تهیه شده از قبل ریخته شد. در نهایت، به مدت ۲۴ ساعت داخل انکوباتوری با دمای ۳۷ درجه قرار داده شد و سپس نتایج با یکدیگر مقایسه گردید. در این آزمایش مخلوط محیط کشت و عصاره به عنوان کنترل منفی و مخلوط محیط کشت و باکتری به عنوان کنترل مثبت در نظر گرفته شد. در پایان با توجه به غلظت‌های به دست آمده از آزمون MIC، میزان MBC برای هر غلظت از عصاره محاسبه گردید.

تجزیه و تحلیل آماری

تمام آزمایشات انجام شده با سه تکرار طراحی گردیدند. پس از انجام هر سنجش، داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS 24 در سطح احتمال ($P=0/05$) تجزیه و تحلیل شدند. براساس نوع عوامل مورد آزمایش به کمک تجزیه واریانس یک‌طرفه برای طرح یک عامل (ANOVA)، میانگین‌ها مقایسه شدند، معنادار بودن اختلاف بین میانگین‌ها تعیین گردید و داده‌ها به کمک آزمون چند دامنه‌ای دانکن گروه‌بندی شدند.

نتایج

نتایج انتشار دیسکی

با استفاده از آنالیز واریانس دوطرفه مشخص گردید که میزان فعالیت ضد میکروبی عصاره‌های برگ بادرنجبویه و برگ حنا تحت تأثیر نوع گیاه و متأثر از نوع

استریل گردیدند. برای تعیین اثرات ضد میکروبی، از ۵ میکروگرم از عصاره‌های گرفته شده در ۱۰۰ سی‌سی حلال استفاده شد (۱۰).

روش انتشار دیسک

غریال کردن فعالیت ضد میکروبی عصاره‌های گیاهی با استفاده از روش ارائه شده توسط Chakraborty و همکاران با اندکی تغییر انجام شد (۹). به منظور انجام آزمایش، ابتدا باکتری‌های مورد نظر در محیط کشت نوترینت براث فعال گردیدند. سپس از باکتری‌های فعال شده، سوسپانسیونی معادل با نیم مک‌فارلند تهیه شد. پس از تهیه سوسپانسیون، روی محیط کشت مولر هینتون آگار به طور یکنواخت پخش گردید. سپس ۵۰ میکرولیتر از عصاره‌ها روی دیسک‌های کاغذی که روی پلیت‌ها قرار داده بودیم، ریخته شد و در پایان، پلیت‌ها در دمای مناسب برای هر باکتری به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه قرار گرفتند.

تعیین MIC و MBC

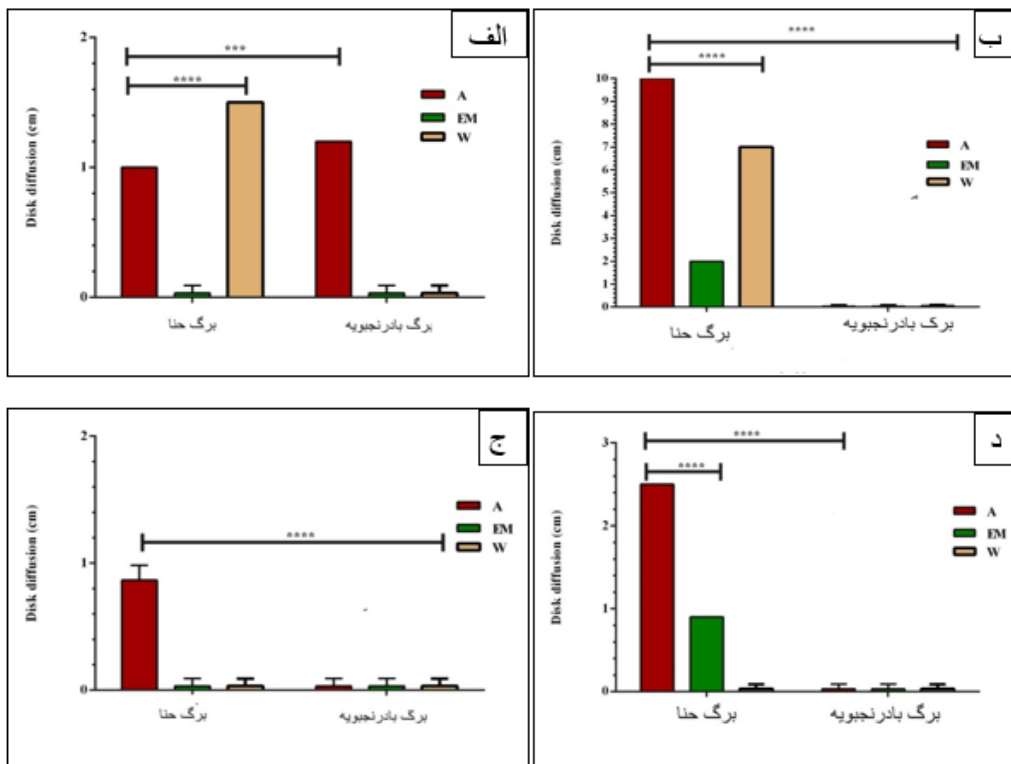
روش کار Microdilution broth در پلیت‌های میکروتیتر ۹۶ خانه‌ای براساس پروتکل Mazzola و همکاران با اندکی تغییر بود (۱۱). برای این کار، ۴۵۰ میکرولیتر از محیط درون میکروتیوب‌های ۲ تا ۹ اضافه گردید. همچنین ۴۵۰ میکرولیتر از عصاره‌های گیاهی به درون چاهک‌های ۱ و ۲ اضافه گشت. سپس از میکروتیوب شماره ۲، ۴۵۰ میکرولیتر به میکروتیوب شماره ۳ ریخته شد و سری رقت به همین ترتیب تا میکروتیوب شماره ۸ ساخته شد و در آخر ۴۵۰ میکرولیتر از میکروتیوب شماره ۸ دور ریخته شد. در ادامه، ۱۰۰ میکرولیتر از میکروارگانسیم به تمام میکروتیوب‌ها اضافه گردید و به مدت ۲۴ ساعت درون انکوباتوری با دمای ۳۷ درجه قرار

میزان فعالیت ضد میکروبی عصاره‌های برگ بادرنجبویه و برگ حنا تحت تأثیر نوع گیاه و نوع حلال (اتانول/متانولی و استونی) قرار دارد. نتایج نشان دادند که عصاره استون و اتانول/متانول برگ حنا دارای اثرات ضد میکروبی بیشتری در مقایسه با عصاره‌های آب و اتانول/متانول برگ بادرنجبویه بر گونه *E. coli* است. در مورد باکتری *Staphylococcus aureus*، عصاره‌های آب و اتانول/متانول هر دو گیاه تقریباً دارای اثرات بازدارندگی و کشندگی بودند و در نهایت هر سه عصاره بادرنجبویه اثرات ضد میکروبی بهتری را در مقایسه با هر سه عصاره برگ حنا روی دو باکتری *Enterococcus* و *Bacillus subtilis* نشان دادند. نتایج حاصل از MIC و MBC روی سویه‌های مورد بررسی حاکی از آن بودند که عصاره استون و اتانول/متانول برگ حنا دارای اثرات ضد میکروبی بیشتری در مقایسه با

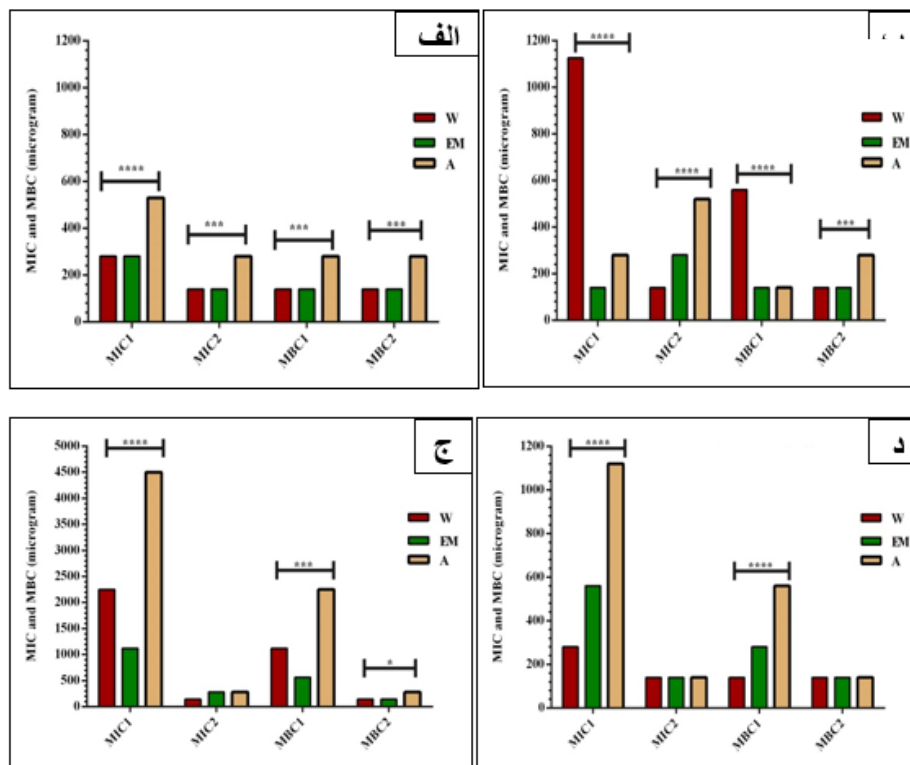
حلال (اتانولی/متانولی و استونی) می‌باشند. نتایج نهایی نشان دادند که عصاره استونی برگ حنا دارای بیشترین اثرات ضد میکروبی بر هر چهار گونه باکتری می‌باشد؛ اما عصاره‌های مختلف برگ بادرنجبویه بدون اثر بودند یا تأثیر بسیاری کمی داشتند (شکل ۱). در این رابطه، مقاوم‌ترین گونه *Staphylococcus aureus* و حساس‌ترین گونه *Enterococcus* بود. نتایج حاصل از انتشار دیسکی نشان دادند که عصاره استونی برگ حنا دارای بیشترین اثرات ضد میکروبی بر هر چهار گونه باکتری بوده و عصاره‌های مختلف برگ بادرنجبویه بدون اثر بوده و یا تأثیر بسیار کمی داشته‌اند.

نتایج MIC و MBC

با استفاده از آنالیز واریانس دوطرفه مشخص گردید که



شکل ۱: نتایج انتشار دیسکی عصاره‌های آبی (W)، اتانولی/متانولی (EM) و متانولی (M) دو گیاه برگ حنا و بادرنجبویه بر باکتری‌های الف: اشریشیا کلی، ب: انتروکوکوس، ج: استافیلوکوکوس اورئوس، د: باسیلوس سابتلیس



شکل ۲: مقادیر MIC و MBC عصاره‌های آبی (w)، اتانولی/متانولی (EM)، متانولی (M) دو گیاه برگ حنا و بادرنجبویه بر باکتری‌های الف: *استافیلوکوکوس اورئوس*، ب: *اشریشیا کلی*، ج: *اتروکوکوس*، د: *باسیلوس سوبتیلیس* و MIC1 و MBC1 مربوط به برگ حنا و MIC2 و MBC2 مربوط به برگ بادرنجبویه می‌باشد)

باعث افزایش نفوذپذیری غشای سلولی می‌شوند؛ در نتیجه سلول متورم شده و از بین می‌رود. در باکتری‌های گرم مثبت نظیر *استافیلوکوکوس اورئوس*، مواد ضد میکروبی و ترکیبات فنلی به راحتی دیواره سلولی باکتری و غشای آن را تخریب می‌کنند و باعث نشت مواد درون باکتری به محیط بیرون می‌شوند. از دیگر فعالیت‌های ضد میکروبی ترکیبات فنلی، توانایی آن‌ها در شکل‌دهی ترکیبات محلول با پروتئین‌ها است که باعث خراب شدن گیرنده‌های سطحی باکتری شده و سنتز پروتئین در باکتری را با اختلال مواجه می‌کند (۱۰).

در این مطالعه با توجه به نتایج آزمون‌های آنتی‌اکسیدانی، عصاره‌های برگ حنا و بادرنجبویه با روش خیساندن در سه حلال اتانول/متانول، استون و آب از نظر خواص ضد میکروبی مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج

عصاره‌های آب و اتانول/متانول برگ بادرنجبویه روی گونه *E. coli* می‌باشد. در مورد باکتری *Staphylococcus aureus* عصاره‌های آب و اتانول/متانول هر دو گیاه تقریباً دارای اثرات بازدارندگی و کشندگی بودند و در نهایت هر سه عصاره بادرنجبویه اثرات ضد میکروبی بهتری را در مقایسه با هر سه عصاره برگ حنا روی دو باکتری *Enterococcus* و *Bacillus subtilis* نشان دادند (شکل ۲).

بحث

مکانیسم دقیق فعالیت ضد باکتریایی عصاره‌های گیاهی هنوز به طور کامل بررسی نشده است و چنین به نظر می‌رسد که ترکیبات فنلی گیاهان به وسیله تغییر در ساختار و عمل غشای سلولی، فعالیت ضد باکتریایی خود را اعمال می‌کنند. مطالعات نشان می‌دهند که ترکیبات فنلی

ضد میکروبی این گیاه روی باکتری‌های *E. coli* و *Staphylococcus aureus* نشان داده شد (۱۸).

نتیجه‌گیری

با توجه به مطالعات صورت‌گرفته، پژوهش حاضر اولین تلاش برای مقایسه همزمان خواص ضد میکروبی گیاهان گل حنا و بادرنجبویه روی چهار سوبه پاتوژن باکتری می‌باشد. در این راستا، تأثیر نوع روش استخراج و سه حلال مورد آنالیز قرار گرفت. بر مبنای نتایج، هر دو عصاره برگ حنا و بادرنجبویه دارای خواص ضد میکروبی خوبی بودند که در این راستا، عصاره استونی برگ حنا اثرات بهتری را نشان داد. در این مطالعه خواص ضد میکروبی برگ بادرنجبویه روی سه سوش باکتری *Staphylococcus aureus*، *Bacillus subtilis* و *Enterococcus* به خوبی نشان داده شد.

حمایت مالی

این پژوهش از سوی دانشگاه الزهرا حمایت مالی شده است.

ملاحظات اخلاقی

در این پژوهش تمام اصول اخلاقی رعایت شده است.

تضاد منافع

نویسندگان اعلام می‌نمایند که هیچ‌گونه تضاد منافعی در پژوهش حاضر وجود ندارد.

تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از پایان‌نامه کارشناسی ارشد رشته بیوشیمی دانشکده علوم زیستی دانشگاه الزهرا می‌باشد. بدین‌وسیله از تمامی اساتید و پژوهشگرانی که در انجام این مطالعه یاری رساندند، تشکر و قدردانی می‌گردد.

انتشار دیسکی نشان دادند که عصاره استونی برگ حنا دارای بیشترین اثرات ضد میکروبی بر هر چهار گونه باکتری می‌باشد و عصاره‌های مختلف برگ بادرنجبویه بدون اثر بوده یا تأثیر بسیار کمی داشته‌اند. در این راستا، مقاوم‌ترین گونه *Staphylococcus aureus* و حساس‌ترین آن *Enterococcus* بود. نتایج اثر کشندگی و بازدارندگی نیز نشان دادند که عصاره استون و اتانول/متانول برگ حنا دارای اثرات ضد میکروبی بیشتری در مقایسه با عصاره‌های آب و اتانول/متانول برگ بادرنجبویه بر گونه *E. coli* است. در مورد باکتری *Staphylococcus aureus*، عصاره‌های آب و اتانول/متانول هر دو گیاه تقریباً دارای اثرات بازدارندگی و کشندگی بودند و در نهایت هر سه عصاره بادرنجبویه، اثرات ضد میکروبی بهتری را در مقایسه با هر سه عصاره برگ حنا بر دو باکتری *Enterococcus* و *Bacillus subtilis* نشان دادند. در مطالعه ربانی و همکاران که در ارتباط با خواص ضد میکروبی بادرنجبویه انجام شد، مشخص گردید که عصاره آب و اتانول/متانول گیاه، اثرات مهاری خوبی بر *Staphylococcus aureus* دارد که این مهم با نتایج پژوهش حاضر همخوان است. باید خاطر نشان ساخت که این اثرات به شدت تحت تأثیر حلال مورد استفاده می‌باشند (۱۲).

احسانی و همکاران در پژوهش خود بیان نمودند که گیاه بادرنجبویه، اثرات مهاری خوبی بر باکتری‌های گرم مثبت مانند *Staphylococcus aureus* دارد (۱۳). از سوی دیگر اثرات ضد ویروسی، ضد قارچی و ضد باکتریال بادرنجبویه به خوبی نشان داده شده است (۱۶-۱۴). خواص ضد میکروبی گیاه گل حنا نیز به خوبی مورد مطالعه و بررسی گرفته است. در این رابطه، در مطالعه‌ای مشخص گردید که عصاره برگ گیاه دارای خواص مهاری روی باکتری *E. coli* می‌باشد که با نتایج مطالعه حاضر همخوانی دارد (۱۷). همچنین در مطالعه Delgado و همکاران، اثرات

References

1. Neu HC. The crisis in antibiotic resistance. *Science*. 1992; 257(5073):1064-73.
2. Cseke LJ, Kirakosyan A, Kaufman PB, Warber S, Duke JA, Briemann HL. *Natural products from plants*. Florida: CRC Press; 2016.
3. Brill S, Dean E. *Identifying and harvesting edible and medicinal plants in wild (and not so wild) places*. New York: Hearst Books; 1994.
4. Sharopov FS, Wink M, Khalifaev DR, Zhang H, Dosoky NS, Setzer WN. Composition and bioactivity of the essential oil of *Melissa officinalis* L. growing wild in Tajikistan. *Int J Trad Natl Med*. 2013; 2(2):86-96.
5. Fairbrother JM, Nadeau É, Desautels C. Non-pathogenic F18 *E. coli* strain and use thereof. United States patent US 10,258,654. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office; 2019.
6. Jackson KA, Gokhale RH, Nadle J, Ray SM, Dumyati G, Schaffner W, et al. Public health importance of invasive methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* infections: surveillance in 8 US counties, 2016. *Clin Infect Dis*. 2020; 70(6):1021-8.
7. Zhang C, Huang J, Zhang J, Liu S, Cui M, An B, et al. Engineered *Bacillus subtilis* biofilms as living glues. *Mater Today*. 2019; 28:40-8.
8. García-Solache M, Rice LB. The *Enterococcus*: a model of adaptability to its environment. *Clin Microbiol Rev*. 2019; 32(2):e000058.
9. Chakraborty M, Mitra A. The antioxidant and antimicrobial properties of the methanolic extract from *Cocos nucifera* mesocarp. *Food Chem*. 2008; 107(3):994-9.
10. Hanachi P, Salehizadeh S, Ramezani R, Zarringhalami R. Comparison of antioxidant and anti-bacterial activities of *Ocimum basilicum* and *impatiens walleriana* and their anticancer properties on SKOV-3 cancer cell line. *Food Sci Technol*. 2020; 17(106):95-107.
11. Mazzola PG, Jozala AF, Novaes LC, Moriel P, Penna TC. Minimal inhibitory concentration (MIC) determination of disinfectant and/or sterilizing agents. *Braz J Pharm Sci*. 2009; 45(2):241-8.
12. Rabbani M, Etemadifar Z, Karamifard F, Borhani MS. Assessment of the antimicrobial activity of *Melissa officinalis* and *Lawsonia inermis* extracts against some bacterial pathogens. *Compar Clin Pathol*. 2016; 25(1):59-65.
13. Ehsani A, Alizadeh O, Hashemi M, Afshari A, Aminzare M. Phytochemical, antioxidant and antibacterial properties of *Melissa officinalis* and *Dracocephalum moldavica* essential oils. *Vet Res Forum*. 2017; 8(3):223-9.
14. Abdellatif F, Boudjella H, Zitouni A, Hassani A. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil from leaves of Algerian *Melissa officinalis* L. *EXCLI J*. 2014; 13:772-81.
15. Miraj S, Rafeian-Kopaei, Kiani S. *Melissa officinalis* L: a review study with an antioxidant prospective. *J Evid Based Complementary Altern Med*. 2017; 22(3):385-94.
16. Schnitzler P, Schuhmacher A, Astani A, Reichling J. *Melissa officinalis* oil affects infectivity of enveloped herpesviruses. *Phytomedicine*. 2008; 15(9):734-40.
17. Haider F, Ullah N. Antioxidant and antimicrobial activity of *impatiens walleriana* local to Malaysia. *Moroccan J Chem*. 2019; 7(3):7-3.
18. Delgado-Rodriguez FV, Hidalgo O, Loria-Gutiérrez A, Weng-Huang NT. In vitro antioxidant and antimicrobial activities of ethanolic extracts from whole plants of three *Impatiens* species (balsaminaceae). *Ancient Sci Life*. 2017; 37(1):16.



Original Article

Comparison of Antimicrobial Effects of *Melissa Officinalis* and *Impatiens Walleriana* Extracts against Several Species of Pathogenic Bacteria

Parichehr Hanachi^{1*}, Roya Sehat², Ameneh Elikaei³, Roshanak Zarringhalami²

¹ Associate Professor, Department of Biochemistry, Faculty of Biological Sciences, Alzahra University, Tehran, Iran

² MSc, Department of Biochemistry, Faculty of Biological Sciences, Alzahra University, Tehran, Iran

³ Assistant Professor, Department of Biochemistry, Faculty of Biological Sciences, Alzahra University, Tehran, Iran

Received: 26 November 2020

Accepted: 28 January 2021

Abstract

Introduction: Emergence of resistance to antimicrobial medications has led to the use of medicinal herbs for the treatment of infections. In this regard, this study aimed to investigate the antimicrobial effects of three extracts (i.e., ethanol/methanol, water, and acetone) of *Melissa officinalis* and *Impatiens walleriana* on four species of bacteria.

Materials and Methods: The selected bacteria, including *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, and *Enterococcus* were first activated in the culture medium of broth neutrinos. Subsequently, a suspension equivalent to half McFarland was prepared from the activated bacteria. Antimicrobial activities of the extracts were evaluated by microdilution broth and disc diffusion methods to determine the minimum inhibitory and bactericidal concentration values.

Results: Based on the results, the *Impatiens walleriana* acetone extract had the most antimicrobial effects on all four species of bacteria. Moreover, acetone and ethanol/methanol extracts of *Impatiens walleriana* had more antimicrobial effects on *E. coli* than ethanol/methanol and water extracts of *Melissa officinalis*. In case of *S. aureus*, the water and ethanol/methanol extracts of both plants had almost the same minimum bactericidal and inhibitory concentration values. Finally, it can be said that all three *Melissa officinalis* extracts had better antimicrobial effects on *Enterococcus* and *B. subtilis* than the three *Impatiens walleriana* extracts.

Conclusion: Among all extracts, acetone extract of *Impatiens walleriana* showed the highest antibacterial property. Given the results and the increasing resistance of bacteria to antibiotics, it is suggested to use antibacterial compounds of plants for the treatment of infectious diseases; nevertheless, further studies should be carried out in this regard.

Keywords: Disc diffusion, *Impatiens walleriana*, *Melissa officinalis*, Minimum inhibitory concentration, Minimum bactericidal concentration