

اثر عصاره متانولی گیاهان بلوط، پسته وحشی و سنجد

بر روی تشکیل بیوفیلم پَسودوموناس آئروژینوزا

آرین امیدی^۱، اصغر شریفی^۲

^۱گروه زیست شناسی، واحد یاسوج، دانشگاه آزاد اسلامی، یاسوج، ایران، ^۲مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، یاسوج، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۱۰/۲۷

تاریخ وصول: ۱۳۹۵/۷/۲۵

چکیده

زمینه و اهداف: تشکیل بیوفیلم یکی از مکانیسم‌های مهمی است که به مقاومت آنتی بیوتیکی در پَسودوموناس آئروژینوزا کمک می‌کند. هدف از این مطالعه بررسی اثر عصاره متانولی جفت بلوط، برگ‌های پسته وحشی و سنجد بر روی تشکیل بیوفیلم سویه‌های بالینی و استاندارد پَسودوموناس آئروژینوزا بود.

روش بررسی: این مطالعه یک مطالعه تجربی - آزمایشگاهی است، که عصاره‌گیری با روش خیساندن (مخلوط کردن پودر گیاهان با متانول ۸۰ درصد) و دستگاه روتاری اوپراتور انجام شد. حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره‌ها با روش میکرودايلوشن برآش تعیین شد. تشکیل بیوفیلم با روش میکروتیتر پلیت و رنگ‌آمیزی با کریستال ویوله بررسی شد. داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از آزمون آنالیز واریانس و دانکن تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره‌های جفت بلوط، پسته وحشی و سنجد علیه پَسودوموناس آئروژینوزا ۶۲۵/ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود، حداقل غلظت کشندگی عصاره جفت بلوط ۱/۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و برای پسته وحشی و سنجد ۲/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. میانگین درصد مهار بیوفیلم پَسودوموناس آئروژینوزا به وسیله عصاره‌های جفت بلوط، پسته وحشی و سنجد به ترتیب ۶۰/۲۴، ۵۷/۳۵ و ۷۲/۶۳ درصد بود.

نتیجه‌گیری: عصاره‌های متانولی جفت بلوط، پسته وحشی و سنجد دارای اثر ضد باکتریایی و ضد بیوفیلمی علیه پَسودوموناس آئروژینوزا بودند به طوری که عصاره سنجد قابلیت بهتری در مهار بیوفیلم داشت و نسبت به عصاره‌های جفت و پسته وحشی اختلاف معنی‌داری نشان داد و احتمالاً با مطالعه‌های بیشتر بتوان از این عصاره‌ها به عنوان مکمل در مهار بیوفیلم باکتری استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: پَسودوموناس آئروژینوزا، بیوفیلم، بلوط، پسته وحشی، سنجد

* نویسنده مسئول: اصغر شریفی، یاسوج، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، دانشکده پزشکی، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی

Email: asgharsharifi@yahoo.com

مقدمه

پسودوموناس آئروژینوزا یک پاتوژن گرم منفی، مهم و فرصت طلب است که می‌تواند انواع عفونت‌های بالینی شامل؛ عفونت زخم و عفونت‌های دستگاه ادراری و عفونت جریان خون را به ویژه در بیماران بستری در بیمارستان و بیماران دچار نقص سیستم ایمنی ایجاد کند. این باکتری دومین علت پنومونی اکتسابی بیمارستانی و همچنین سومین علت عفونت‌های ادراری بیمارستانی در ایالات متحده آمریکا و پنجمین علت عفونت‌های ادراری بیمارستانی در اروپا می‌باشد(۱). پسودوموناس آئروژینوزا در برابر بسیاری از ضد عفونی کننده‌ها و آنتی‌بیوتیک‌ها از جمله پنی‌سیلین‌های ضد پسودوموناس، سفنازیدیم، کارباپنیم‌ها، آمینوگلیکوزیدها و سیپروفلوکساسین مقاوم است(۲). پسودوموناس آئروژینوزا دو نوع فاکتور بیماری‌زایی دارد که فاکتور بیماری‌زایی نوع اول شامل عوامل دخیل در عفونت حاد می‌باشد و شامل پیلی، اگزوانزیم S، ادهسین‌ها، اگزوتوکسین A، فسفولیپاز C و تولید حداقل چهار نوع پروتئاز که باعث خون ریزی و نکروز بافتی می‌شود. فاکتورهای نوع دوم شامل عوامل دخیل در عفونت مزمن است و شامل سیدروفورها و آلزینات می‌باشد. آلزینات به تشکیل بیوفیلم باکتری در چسبیدن به سلول‌های اپیتلیال کمک می‌کند(۳). تشکیل بیوفیلم یکی از قابل توجه‌ترین مکانیسم‌هایی است که به مقاومت آنتی‌بیوتیکی در پسودوموناس آئروژینوزا کمک می‌کند(۴). بیوفیلم اجتماع پیچیده باکتری است که در

یک پوشش گلیکوکالیکس احاطه شده و به سطوح مخاطی متصل می‌شود. تشکیل بیوفیلم به وسیله پسودوموناس آئروژینوزا در راه تنفسی بیماران فیبروز کیستیک، پنومونی و بیماران ریوی مزمن یکی از علت‌های مهم در طولانی شدن درمان، تشدید علایم بالینی و حتی مرگ بیماران می‌باشد(۵). در سال ۲۰۱۴ سازمان جهانی بهداشت یک گزارش در رابطه با مقاومت آنتی‌بیوتیکی منتشر کرد و این تهدید جهانی در حال افزایش است و توانایی ما برای درمان عفونت‌های بیمارستانی و یا اکتسابی از جامعه به خطر می‌افتد و افزایش بی رویه در استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها در مراکز بهداشتی درمانی و یا به وسیله افرادی که خودسرانه دارو تجویز می‌کنند، می‌تواند مستعد بیماری‌های عفونی به وسیله میکروارگانیسم‌های مقاوم به چند دارو شود. بنابراین برای حل این چالش، شناسایی بررسی ترکیب‌های ضد میکروبی موجود در عصاره گیاهان دارویی به عنوان یک منبع جدید دارویی و یک روش درمان جایگزین می‌تواند مؤثر باشد(۶). امروزه توجه به ترکیب‌های گیاهان در مقابله با میکروارگانیسم‌های پاتوژن افزایش پیدا کرده است. سابقه مصرف طولانی مدت گیاهان در طب سنتی، دسترسی ساده به گیاهان و کم هزینه بودن آنها ویژگی‌هایی هستند که باعث شده که به یک گزینه مورد توجه در مهار سویه‌های میکروبی تبدیل شوند(۷). بلوط فراوان‌ترین و مهم‌ترین گونه درختی در غرب ایران به خصوص در منطقه زاگرس است. گونه‌های مهم بلوط که در ایران رویش

بیوفیلم پَسودوموناس آئروژینوزا مورد بررسی قرار دادند، آنها به این نتیجه رسیدند که بیشترین اثر ضدباکتریایی مربوط به عصاره بلوط *Q. infectoria* و عصاره *M. communis* و همچنین بیشترین فعالیت ضد بیوفیلمی مربوط به عصاره *Q. infectoria* و *G. glabra* می باشد (۱۳).

برجیان بروجنی و همکاران اثرات ضدباکتریایی عصاره هیدروالکی میوه بلوط (*Q. brantii*) را بر روی لیستریا منوسیتوزنز و انتروکوکوس فکالیس در شرایط آزمایشگاهی مورد بررسی قرار دادند نتایج آنها نشان داد که عصاره بلوط ایرانی با دارا بودن ماده ضد میکروبی تانن بر روی این دو باکتری اثر مهارکنندگی رشد و کشندگی دارد (۱۴).

عزیزیان و همکاران در یک تحقیق فعالیت ضد باکتریایی عصاره آبی پسته وحشی را در شرایط آزمایشگاهی مورد بررسی قرار دادند و دریافتند که این عصاره دارای اثر بازدارندگی علیه باکتری‌های اشرشیاکلی، پَسودوموناس آئروژینوزا و استافیلوکوکوس آرتوس می باشد (۱۵).

در مطالعه جامه دار و همکاران برای تعیین قطر هاله ی مهار رشد باکتری پَسودوموناس آئروژینوزا از غلظت های ۱۲/۵، ۲۵ و ۵۰ میلی گرم بر میلی لیتر عصاره استفاده شد و بر اساس نتایج به دست آمده عصاره آبی برگ درخت سنجد تلخ (*Hippophae rhamnoides*) در غلظت ۵۰ میلی گرم بر میلی لیتر بیشترین اثر را بر روی پَسودوموناس

دارند شامل بلوط ایرانی *Q. infectoria*، *Q. libani* می باشد (۸). گونه *brantii* در جنگل‌های استان کهگیلویه و بویراحمد گونه غالب است. بر اساس مطالعه‌های انجام شده این گونه ۵ درصد تانن دارد (۹). بلوط یکی از گیاهان خانواده فاگاسه و جنس کوئرکوس می باشد میوه آن هم برای مصارف غذایی و هم در طب سنتی کاربرد زیادی دارد و حاوی ترکیب‌های بیولوژیکی فعال از جمله تانن، گالیک اسید و مشتقات هگزا هیدروکسی دی فنوئیل یا گالویل می باشد (۱۰). گیاه پسته با نام علمی *Pistacia atlantica* از خانواده *آناکاردیاسه (Anacardiaceae)* می باشد و در مناطق مدیترانه و خاورمیانه پراکنش دارد. بخش‌های هوایی این گیاه در طب سنتی به عنوان مدر، درمان فشارخون بالا، سرفه، گلودرد، اگزما و درد معده استفاده می شود. برگ‌های این گیاه به دلیل ترکیب‌های فنلی دارای خواص آنتی اکسیدانی می باشد (۱۱). سنجد گیاهی با نام علمی *Elaeagnus angustifolia* و بومی نواحی شمالی آسیا تا هیمالیا و اروپا می باشد. این گیاه در تهران و اطراف آن، قزوین، خراسان، غرب ایران، جنوب شرقی ایران، آذربایجان و ارومیه می روید. یکی از قسمت‌های این گیاه که استفاده می شود برگ‌های آن است، این گیاه دارای تانن، فلاونوئید، مواد رنگی و کربوهیدرات می باشد. رنگ برگ‌های این گیاه نقره‌ای و میوه آن خوراکی و دارای خاصیت دارویی است (۱۲).

منصوری و همکاران فعالیت بازدارندگی عصاره گیاهان ایران را بر روی رشد و تشکیل

روش بررسی

این مطالعه به صورت تجربی- آزمایشگاهی جهت بررسی اثر عصاره‌های متانولی جفت بلوط، پسته وحشی و سنجد بر روی تشکیل بیوفیلم *پسودوموناس آئروژینوزا* انجام شد. روش نمونه‌گیری به صورت غیر احتمالی ساده بود و حجم نمونه بر اساس جدول مورگان و فرمول کوکران تعیین شد. برای نمونه‌گیری ابتدا با مراجعه به آزمایشگاه های شهر یاسوج، تعداد ۱۰ نمونه بالینی *پسودوموناس آئروژینوزا* جمع‌آوری و در حداقل زمان ممکن به آزمایشگاه میکروبی شناسی دانشکده پزشکی یاسوج انتقال داده شد. علاوه بر نمونه‌های بالینی از نمونه استاندارد PAO1 *پسودوموناس آئروژینوزا* که به وسیله دانشکده پزشکی یاسوج تهیه شده بود جهت بررسی اثر عصاره‌های جفت بلوط، پسته وحشی و سنجد بر روی تشکیل بیوفیلم این سویه نیز استفاده شد. جهت تأیید مجدد سویه‌ها از تست‌های بیوشیمیایی از جمله؛ اکسیدان، کاتالاز، اکسیداسیون - تخمیر، تولید پیگمان و رنگ‌آمیزی گرم استفاده شد.

گیاهان مورد استفاده در این مطالعه از شهر یاسوج جمع‌آوری و تعیین گونه شدند و سپس این گیاهان در دمای اتاق و دور از نور و رطوبت خشک گردیدند (۱۸). مشخصات کامل این گیاهان در جدول ۱ آمده است.

آئروژینوزا داشت و حداقل غلظت مهار کنندگی (MIC) عصاره برگ درخت سنجد ۱۲/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تعیین شد (۱۶).

دهقان و همکاران خواص ضد میکروبی عصاره سنجد (*E.angustifolia*) را بر روی سویه‌های استاتفیلوکوکوس آرنوس، استرپتوکوک پنومونیه، کاندیدا کروز، اشیریشیاکلی و کلبسیلا پنومونه مورد بررسی قرار دادند و نتایج آنها نشان داد که این عصاره دارای خواص ضد میکروبی علیه این سویه‌ها می‌باشد (۱۷). از آنجایی که تشکیل بیوفیلم به وسیله *پسودوموناس آئروژینوزا* در راه تنفسی بیماران فیروز کیستیک، پنومونی و بیماران ریوی مزمن یکی از علت‌های مهم در طولانی شدن درمان، تشدید علائم بالینی و حتی مرگ بیماران می‌باشد و همچنین مقاومت آنتی‌بیوتیکی در جدایه‌های *پسودوموناس آئروژینوزا* رو به افزایش است و تشکیل بیوفیلم به وسیله این باکتری باعث افزایش مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها می‌شود، در این میان سابقه مصرف طولانی مدت گیاهان در طب سنتی، دسترسی ساده به گیاهان و کم هزینه بودن گیاهان دارویی، باعث شده که گیاهان در مهار سویه‌های میکروبی به عنوان یک گزینه مورد توجه واقع شوند، لذا هدف از این مطالعه بررسی اثر عصاره متانولی جفت بلوط، پسته وحشی و سنجد بر روی تشکیل بیوفیلم *پسودوموناس آئروژینوزا* بود.

۹۵ میکرولیتر محیط کشت مولر هینتون براث ریخته شد. در ردیف‌های کنترل منفی (بلانک) ۱۰۰ میکرولیتر محیط کشت ریخته شد. در تمام چاهک‌های ستون اول ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره تهیه شده اضافه شد (در سه تکرار). بعد از این مرحله محتویات اولین چاهک ردیف اول با سمپلر به خوبی مخلوط شد، سپس ۱۰۰ میکرولیتر از آن با سمپلر به چاهک بعدی انتقال داده شد، این کار تا یک چاهک مانده به آخر به همین ترتیب انجام و ۱۰۰ میکرولیتر آخر دور ریخته شد. ردیف‌های بعدی هم به همین ترتیب انجام شد. غلظت عصاره‌ها در چاهک‌ها به ترتیب ۱۰، ۵، ۲/۵، ۱/۲۵، ۰/۶۲۵، ۰/۳۱۲ و ۰/۱۵۶ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. در مرحله بعد سوسپانسیون میکروبی معادل نیم مک فارلند به رقت $10^7 \times 1$ کلنی در هر میلی‌لیتر رسانده شد و در تمام چاهک‌ها به جز چاهک‌های بلانک، مقدار ۵ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتری با رقت $10^7 \times 1$ کلنی در هر میلی‌لیتر ریخته شد که در نهایت غلظت باکتری هر چاهک $10^5 \times 1$ کلنی در هر میلی‌لیتر شد. در مرحله بعد پلیت ۹۶ چاهکی به مدت ۱۸ تا ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در آنکوباتور شیکر دار قرار گرفت. بعد از این مدت زمان، اولین چاهکی که رشد باکتری را مهار کرده بود به عنوان MIC در نظر گرفته شد. برای تعیین حداقل غلظت کشندگی (MBC) مقدار ۱۰ میکرولیتر از محتویات هر کدام از چاهک‌ها (چاهک MIC و دو چاهک قبل و دو چاهک بعد از چاهک MIC) برداشته شد و بر روی محیط نوترنیت آگار کشت داده شد (در سه تکرار) و به

برای تهیه عصاره متانولی گیاهان از روش شریفی و همکاران و روش طباطبایی و همکاران با کمی اصلاحات جزئی استفاده شد (۲۰ و ۱۹). ابتدا گیاهان خشک شده پودر گردیدند، سپس برای تهیه عصاره متانولی ۸۰ درصد، مقدار ۲۰۰ گرم از گیاه پودر شده در ۱۰۰۰ سی‌سی متانول ۸۰ درصد ریخته شد و با روش خیساندن مخلوط شد، سپس به مدت ۴۸ ساعت بر روی شیکر در دمای اتاق قرار داده شد و در نهایت بوسیله دستگاه پمپ خلاء و دستگاه روتاری عصاره‌گیری انجام شد و عصاره بدست آمده پس از خشک شدن در یخچال نگهداری شد.

جهت تهیه غلظت مورد نیاز از عصاره‌ها برای تعیین حداقل غلظت مهار کنندگی (MIC)، مقدار ۰/۰۲ گرم از عصاره در ۱ سی‌سی از دی متیل سولفوکساید حل گردید و با استفاده از فیلتر میلی‌پور ۰/۲۲ میکرون استریل شد و به عنوان محلول ذخیره (۲۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) تا زمان مصرف در ظرف شیشه‌ای استریل و تیره در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (۷). جهت تهیه غلظت مورد نیاز از عصاره‌ها برای بررسی مهار بیوفیلم، مقدار ۰/۰۳ گرم از عصاره در ۱ سی‌سی از دی متیل سولفوکساید حل گردید و با استفاده از فیلتر میلی‌پور ۰/۲۲ میکرون استریل شد و به عنوان محلول ذخیره (۳۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) تا زمان مصرف در ظرف شیشه‌ای استریل و تیره در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (۷). برای تعیین MIC از روش میکرودایلوشن براث استفاده شد (۲۱). ابتدا در هر کدام از چاهک‌های پلیت ۹۶ چاهکی مقدار

مدت ۱۸ تا ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در آنکوباتور قرار گرفت بعد از این مدت کمترین غلظت از عصاره که مانع رشد باکتری شده بود به عنوان MBC در نظر گرفته شد (۲۲ و ۲۳).

برای بررسی اثر عصاره متانولی این گیاهان بر روی تشکیل بیوفیلم *پسودوموناس آئروژینوزا* از روش میکروتیتر پلیت و رنگ‌آمیزی با کریستال ویوله ۰/۱ درصد استفاده شد (۲۴). برای این کار ابتدا در هر کدام از چاهک‌ها ۱۰۰ میکرولیتر محیط کشت مولر هینتون برآث ریخته شد و در چاهک‌های ستون اول ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره ریخته شد (در سه تکرار) و همانند روش MIC که توضیح داده شد عصاره‌ها به چاهک‌ها منتقل شدند، با این تفاوت که حجم نهایی چاهک‌ها در روش MIC برابر با ۱۰۰ میکرولیتر بود، اما برای بیوفیلم حجم نهایی هر چاهک ۲۰۰ میکرولیتر می‌باشد. در مرحله بعد ۱۰۰ میکرو لیتر از سوسپانسیون رقیق شده باکتری با رقت $10^6 \times 2$ کلنی در هر میلی‌لیتر به چاهک‌ها (به غیر از چاهک‌های کنترل منفی) اضافه شد؛ به طوری که در نهایت غلظت باکتری هر چاهک معادل 10^6 کلنی در هر میلی‌لیتر بود. چاهک‌های کنترل مثبت شامل ۱۰۰ میکرولیتر محیط کشت و ۱۰۰ میکرولیتر سوسپانسیون باکتری بود و هیچ‌گونه عصاره‌ای وجود نداشت در چاهک‌های کنترل منفی فقط ۲۰۰ میکرولیتر محیط کشت ریخته شد و چاهک‌های تیمار شامل محیط کشت، عصاره و باکتری بود. پلیت ۹۶ چاهکی به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در آنکوباتور قرار گرفت.

بعد از ۲۴ ساعت محتویات چاهک‌ها به آرامی خالی شد و سه مرتبه با سدیم کلرید ۹ درصد شستشو داده شد و میکروتیتر پلیت در دمای اتاق خشک گردید. سپس به هر کدام از چاهک‌ها ۲۰۰ میکرولیتر متانول اضافه شد تا جمعیت بیوفیلمی تثبیت شود، بعد از ۱۵ دقیقه متانول چاهک‌ها دور ریخته شد و پلیت ۹۶ چاهکی در دمای اتاق خشک گردید. سپس به هر چاهک ۲۰۰ میکرولیتر کریستال ویوله ۰/۱ درصد به مدت ۵ دقیقه اضافه شد، سپس رنگ‌های اضافی با جریان ملایم آب شسته شد و پلیت ۹۶ چاهکی در دمای اتاق خشک گردید. در مرحله بعد به هر چاهک ۲۰۰ میکرولیتر اسید استیک گلاسیال ۳۳ درصد اضافه شد و رنگ‌های متصل به چاهک در اسید حل گردید، سپس به وسیله دستگاه الیزا ریدر میزان جذب نوری در ۶۳۰ نانومتر خوانده شد.

سنجش درصد کاهش تولید بیوفیلم *پسودوموناس آئروژینوزا* بر اساس فرمول زیر محاسبه شد (۲۴).

$$100 \times \frac{((ODC-ODB)-(ODT-ODB))}{(ODC-ODB)}$$

تولید بیوفیلم؛ ODC: جذب نوری چاهک کنترل مثبت، ODB: جذب نوری چاهک بلانک (کنترل منفی) و ODT:

جذب نوری چاهک تیمار با عصاره

همه آزمون‌ها در این مطالعه با سه تکرار انجام شد. داده‌های این مطالعه با استفاده از نرم افزار آماری SPSS و آزمون تحلیل واریانس و آزمون دانکن در سطح ۰/۰۵ آنالیز شدند (۲۴).

جدول شماره ۱. مشخصات گیاهان مورد استفاده در این مطالعه.

نام فارسی	نام علمی گیاه	گونه	خانواده	محل جمع آوری گیاه	قسمت مورد استفاده
بلوط	<i>Quercus brantii</i>	<i>Q. brantii</i>	<i>Fagaceae</i>	یاسوج	جفت
پسته وحشی	<i>Pistacia atlantica</i>	<i>P. atlantica</i>	<i>Anacardiaceae</i>	یاسوج	برگ ها
سنجد	<i>Elaeagnus angustifolia</i>	<i>E. angustifolia</i>	<i>Elaeagnaceae</i>	یاسوج	برگ ها

یافته‌ها

عصاره متانولی جفت بلوط بر روی تشکیل بیوفیلم *پسودوموناس آئروژینوزا* نشان داد که این عصاره بر روی تشکیل بیوفیلم *پسودوموناس آئروژینوزا* مؤثر است و این عصاره به طور میانگین ۶۰/۲۴ درصد تشکیل بیوفیلم *پسودوموناس آئروژینوزا* را مهار کرد. عصاره متانولی پسته وحشی نیز به طور میانگین ۵۷/۳۵ درصد تشکیل بیوفیلم *پسودوموناس آئروژینوزا* را مهار کرد. هم‌چنین در بررسی اثر عصاره متانولی سنجد بر روی تشکیل بیوفیلم *پسودوموناس آئروژینوزا*، نتایج نشان داد که این عصاره قابلیت بهتری در مهار بیوفیلم *پسودوموناس آئروژینوزا* دارد و به طور میانگین ۷۲/۶۳ درصد تشکیل بیوفیلم *پسودوموناس آئروژینوزا* را مهار کرد. بر اساس آنالیز آماری انجام شده بر روی تأثیر عصاره‌های جفت بلوط، پسته وحشی و سنجد علیه تشکیل بیوفیلم *پسودوموناس آئروژینوزا*، عصاره سنجد نسبت به عصاره‌های جفت بلوط و پسته وحشی تفاوت معنی‌داری نشان داد ($P=0/001$). مقایسه تأثیر عصاره‌های این گیاهان بر روی تشکیل بیوفیلم *پسودوموناس آئروژینوزا* در نمودار ۱ آمده است. در رابطه با اثر عصاره متانولی سنجد بر روی تشکیل بیوفیلم سویه‌های بالینی و سویه استاندارد

نتایج تعیین حداقل غلظت مهار کنندگی و حداقل غلظت کشندگی عصاره‌های متانولی جفت بلوط، پسته وحشی و سنجد علیه سویه‌های بالینی و سویه استاندارد *پسودوموناس آئروژینوزا* نشان داد که این عصاره‌ها قابلیت مهار کنندگی و کشندگی خوبی علیه *پسودوموناس آئروژینوزا* دارند (جدول ۲).

در بین ۱۰ سویه بالینی *پسودوموناس آئروژینوزا*، ۵ سویه قادر به تشکیل بیوفیلم بودند و هم‌چنین علاوه بر این، سویه استاندارد PAO1 *پسودوموناس آئروژینوزا* نیز توانایی تشکیل بیوفیلم را داشت. میزان جذب نوری بررسی تشکیل بیوفیلم سویه‌های *پسودوموناس آئروژینوزا* در محدوده جذب نوری ۰/۰۶ تا ۰/۰۷ برای منفی (عدم تشکیل بیوفیلم) و در محدوده ۱/۴۱ تا ۴/۳۹ برای مثبت (تشکیل بیوفیلم) به دست آمد. بررسی اثر این عصاره‌ها بر روی تشکیل بیوفیلم *پسودوموناس آئروژینوزا* نشان داد که در شرایط آزمایشگاهی عصاره متانولی جفت بلوط، پسته وحشی و سنجد بر روی تشکیل بیوفیلم *پسودوموناس آئروژینوزا* نیز مؤثر است. نتایج اثر غلظت‌های مختلف این عصاره‌ها بر روی تشکیل بیوفیلم *پسودوموناس آئروژینوزا* در جدول ۳ آمده است. بررسی اثر

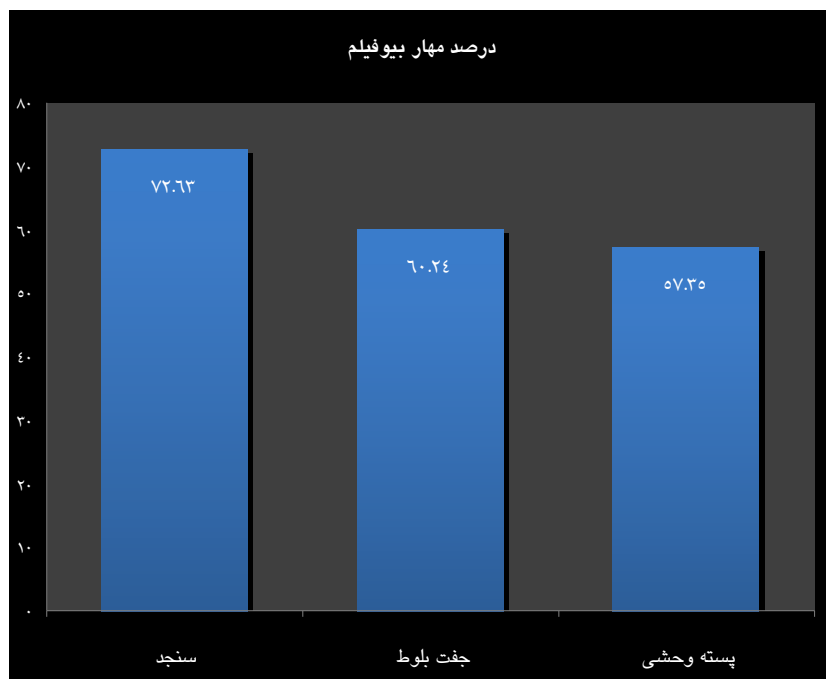
پسودوموناس آئروژینوزا تفاوت معنی‌داری بین سویه‌های بالینی و سویه استاندارد PAO1 مشاهده نشد ($P=0/62$) به طوری که در رابطه با اثر عصاره‌های متانولی جفت بلوط و پسته وحشی بر روی تشکیل بیوفیلم سویه‌های بالینی و سویه استاندارد پسودوموناس آئروژینوزا، بین سویه‌های بالینی و سویه استاندارد PAO1 تفاوت معنی‌داری وجود داشت ($P=0/001$).

جدول ۲: نتایج حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی عصاره های متانولی جفت بلوط، پسته وحشی و سنجد علیه پسودوموناس آئروژینوزا. مقادیر بر حسب میلی گرم بر میلی لیتر می‌باشد.

سویه	جفت بلوط		پسته وحشی		سنجد	
	حداقل غلظت مهارکنندگی	حداقل غلظت کشندگی	حداقل غلظت مهارکنندگی	حداقل غلظت کشندگی	حداقل غلظت مهارکنندگی	حداقل غلظت کشندگی
استاندارد	۱/۲۵	۱/۲۵	۱/۲۵	۱/۲۵	۱/۲۵	۱/۲۵
۱ بالینی	۱/۲۵	۱/۲۵	۱/۲۵	۱/۲۵	۱/۲۵	۱/۲۵
۲ بالینی	۱/۲۵	۱/۲۵	۱/۲۵	۱/۲۵	۱/۲۵	۱/۲۵
۳ بالینی	۱/۲۵	۱/۲۵	۱/۲۵	۱/۲۵	۱/۲۵	۱/۲۵
۴ بالینی	۱/۲۵	۱/۲۵	۱/۲۵	۱/۲۵	۱/۲۵	۱/۲۵
۵ بالینی	۱/۲۵	۱/۲۵	۱/۲۵	۱/۲۵	۱/۲۵	۱/۲۵
۶ بالینی	۱/۲۵	۱/۲۵	۱/۲۵	۱/۲۵	۱/۲۵	۱/۲۵
۷ بالینی	۱/۲۵	۱/۲۵	۱/۲۵	۱/۲۵	۱/۲۵	۱/۲۵
۸ بالینی	۱/۲۵	۱/۲۵	۱/۲۵	۱/۲۵	۱/۲۵	۱/۲۵
۹ بالینی	۱/۲۵	۱/۲۵	۱/۲۵	۱/۲۵	۱/۲۵	۱/۲۵
۱۰ بالینی	۱/۲۵	۱/۲۵	۱/۲۵	۱/۲۵	۱/۲۵	۱/۲۵

جدول ۳: درصد مهار تشکیل بیوفیلم پسودوموناس آئروژینوزا به وسیله غلظت‌های مختلف عصاره متانولی جفت بلوط، پسته وحشی و سنجد

عصاره	سویه	غلظت (میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)					
		۷/۵	۲/۷۵	۱/۸۷	۰/۹۳	۰/۴۶	۰/۲۳
جفت بلوط	استاندارد	۴۲/۱	۲۲/۳	۰	۰	۰	۰
	۲ بالینی	۸۹/۶	۸۷/۱	۸۶/۹	۷۴/۳	۶۷/۹	۶۳/۲
	۵ بالینی	۸۹/۴	۸۵/۹	۸۵/۶	۸۵/۳	۸۴/۳	۵۸/۹
	۷ بالینی	۸۵/۵	۷۹/۵	۷۹	۷۸/۱	۷۷/۲	۷۳/۹
	۸ بالینی	۷۷/۹	۷۱/۵	۶۸/۸	۶۷/۸	۶۵/۱	۶۴/۲
	۱۰ بالینی	۷۱/۹	۶۶/۲	۵۷/۳	۵۳/۹	۵۰/۵	۴۸/۳
پسته وحشی	استاندارد	۶۴/۷	۶۴/۷	۶۱/۷	۰	۰	۰
	۲ بالینی	۹۲/۷	۹۲/۲	۸۹/۹	۸۶/۶	۷۹/۱	۶۸/۸
	۵ بالینی	۹۵/۵	۹۵/۵	۹۲/۶	۸۷/۸	۷۲/۲	۳۵/۳
	۷ بالینی	۸۵/۱	۸۲/۲	۸۲/۲	۵۷/۴	۵۵/۵	۵۴
	۸ بالینی	۶۱/۲	۵۹/۴	۵۶/۸	۵۶	۵۵/۱	۵۴/۳
	۱۰ بالینی	۶۰/۸	۵۴	۵۰	۴۵/۹	۴۳/۲	۳۵/۱
سنجد	استاندارد	۱۰۰	۹۴/۱	۸۰/۲	۵۰	۴۱/۸	۳۶
	۲ بالینی	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۹۵/۹	۸۳	۷۵/۵
	۵ بالینی	۹۸/۴	۹۸/۴	۹۸	۹۳/۹	۶۸/۷	۴۱/۷
	۷ بالینی	۹۴/۷	۹۳/۷	۹۳/۳	۷۱/۷	۶۲/۲	۵۵/۵
	۸ بالینی	۸۹/۶	۸۸/۷	۷۰/۶	۶۶/۳	۵۷/۷	۵۵/۱
	۱۰ بالینی	۹۵/۹	۸۹/۱	۷۸/۳	۷۵/۶	۷۱/۶	۵۹/۴



نمودار ۱: مقایسه اثر مهار کنندگی بیوفیلم پَسودوموناس آئروژینوزا به وسیله عصاره متانولی گیاهان دارویی بلوط، پسته وحشی و سنجد

بحث

می‌باشد. در بررسی‌های دیگر قابلیت عصاره این گیاهان در کاهش بیوفیلم تأیید شده است. نتایج مطالعه کوسری و همکاران در سال نشان داد که عصاره بلوط گونه *Quercus. infectoria* بر روی تشکیل بیوفیلم استافیلوکوکوس آرتوس مقاوم به متی سیلین مؤثر است (۲۵). در مطالعه هابی و همکاران در رابطه با اثر عصاره بلوط بر روی تشکیل بیوفیلم استافیلوکوکوس آرتوس مشخص گردید که عصاره بلوط باعث مهار $10 \pm 63\%$ درصد بیوفیلم استافیلوکوکوس آرتوس شد (۲۶). محمدی و همکاران در یک مطالعه ثابت کردند که گال دارمازو *Q.infectoria* به شدت تشکیل بیوفیلم استرپتوکوک موتانس را در غلظت بالاتر از ۱۹/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر مهار می‌کند (۲۷). حسینی و همکاران در یک مطالعه فعالیت

در این مطالعه اثر عصاره متانولی گیاهان دارویی بلوط، پسته وحشی و سنجد بر روی تشکیل بیوفیلم پَسودوموناس آئروژینوزا به روش میکروتیتر پلیت و رنگ آمیزی با کریستال ویوله مورد بررسی قرار گرفت. بررسی اثر این عصاره‌ها بر روی تشکیل بیوفیلم نشان داد که عصاره هر سه گیاه مورد مطالعه علاوه بر خواص ضد میکروبی بر روی تشکیل بیوفیلم پَسودوموناس آئروژینوزا مؤثر می‌باشد. میزان مهار بیوفیلم به وسیله عصاره‌های جفت بلوط، پسته وحشی و سنجد به غلظت وابسته بود و با افزایش غلظت درصد مهار بیوفیلم افزایش پیدا کرد. مقایسه این گیاهان با یکدیگر نشان داد که بیشترین درصد مهار بیوفیلم مربوط به عصاره متانولی سنجد

ضد میکروبی عصاره صمغ بنه را بر روی بیوفیلیم *استریپتوکوک موتانس* مورد بررسی قرار دادند، مطالعه آنها نشان داد که عصاره صمغ بنه باعث کاهش بیوفیلیم *استریپتوکوک موتانس* می‌شود (۱۱). نتایج حاصل از این مطالعه با مطالعه حاضر همخوانی دارد. از نتایج قابل توجه در مطالعه حاضر اثر مهار کنندگی و کشندگی این عصاره‌ها بر روی *پسودوموناس آئروژینوزا* بود که مقدار MIC برای عصاره جفت بلوط، پسته وحشی و سنجد ۰/۶۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به دست آمد. همچنین مقدار MBC برای جفت بلوط ۱/۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و برای پسته وحشی و سنجد ۲/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به دست آمد، که این مقادیر تأیید کننده قابلیت مهار کنندگی و کشندگی مناسب عصاره متانولی این گیاهان علیه *پسودوموناس آئروژینوزا* می‌باشد. در مطالعه‌های دیگر نیز قابلیت مهار کنندگی و کشندگی این عصاره‌ها مورد بررسی قرار گرفته است به طوری که جوادی و همکاران در یک مطالعه اثر مهار عصاره آبی بلوط (*Q.coccifera*) را بر روی *استافیلوکوکوس آرتوس* و *پسودوموناس آئروژینوزا* مورد بررسی قرار دادند و میزان MIC و MBC را برای *پسودوموناس آئروژینوزا* به ترتیب ۱۰ و ۱۷/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر به دست آوردند (۲۸). برجیان بروجنی و همکاران نیز اثرات ضد باکتریایی عصاره هیدرو الکلی میوه بلوط را بر روی *لیستریا منوسیتوژنز* و *انتروکوکوس فکالیس* مورد مطالعه قرار دادند و میزان MIC و MBC عصاره را برای

لیستریا منوسیتوژنز به ترتیب ۲ و ۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و برای *انتروکوکوس فکالیس* به ترتیب ۲ و ۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تعیین کردند (۱۴). در مطالعه دیگر از قادری قهفرخی و همکاران در رابطه با بررسی اثر ضد باکتریایی عصاره‌های اتانولی میوه دو وارپته بلوط بر باکتری‌های مواد غذایی با روش میکرو دایلوژن مشخص شد که هر دو عصاره در مقابل تمام باکتری‌های مورد بررسی اثر مهار کنندگی و کشندگی قابل قبولی دارند (۲۹). شیالی و همکاران در مطالعه‌ای دیگر مقدار MIC عصاره میوه و برگ بنه را برای قارچ‌های *کاندیدا* و *آسپرژیلوس* در محدوده ۶/۲۵ تا ۱۲/۵ و ۱۲/۵ تا ۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به دست آوردند (۳۰). در مطالعه عزیزیان و همکاران بر روی فعالیت ضد باکتریایی عصاره آبی پسته وحشی (*P. atlantica*) در شرایط آزمایشگاهی مقدار MIC برای *پسودوموناس آئروژینوزا* ۱۰۴/۱۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر به دست آمد (۱۵) در صورتی که در مطالعه حاضر MIC عصاره متانولی پسته وحشی برای *پسودوموناس آئروژینوزا* ۰/۶۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به دست آمد. جامعه دار و همکاران در یک مطالعه اثر ضد باکتری عصاره‌های آبی گیاهان بومی ایران را بر روی سویه استاندارد *پسودوموناس آئروژینوزا* مورد بررسی قرار دادند و بیشترین اثر ضد باکتریایی در مطالعه آنها مربوط به عصاره سنجد بوده است (۱۶). سبیر و همکاران در یک بررسی بر روی فعالیت ضد باکتریایی سنجد زینتی (*Elaeagnus umbellate*) مشخص کردند که عصاره اتری گل سنجد علیه

گیاهان در آینده بتوان از این گیاهان به عنوان مکمل‌های درمانی در کنار آنتی‌بیوتیک‌ها استفاده کرد.

تقدیر و تشکر

این تحقیق حاصل پایان نامه کارشناسی ارشد دانشگاه آزاد اسلامی واحد یاسوج می‌باشد که در آزمایشگاه میکروپزشناسی دانشکده پزشکی یاسوج انجام شد، لذا از دانشگاه آزاد اسلامی واحد یاسوج، دانشکده پزشکی یاسوج، کارشناسان آزمایشگاه میکروپزشناسی، راضیه محسنی و مرضیه طاهری‌پور و هم‌چنین مرکز تحقیقات گیاهان دارویی تشکر و قدر دانی می‌شود.

باکتری‌های *اشریشیاکلی*، *پسدوموناس آئروژینوزا*، *استافیلوکوکوس آرنوس* و *باسیلوس سابتیلیس* مؤثر می‌باشد و عصاره آبی میوه‌های آن قادر به مهار رشد *اشریشیاکلی* و *استافیلوکوکوس آرنوس* می‌باشد. در حالی که *پسدوموناس آئروژینوزا* مقاوم به چند دارو به طور کامل به عصاره آبی مقاومت نشان داد و عصاره استونی میوه‌ها اثر خوبی روی *پسدوموناس آئروژینوزا* داشت (۳۱). نتایج این مطالعه‌ها با نتایج حاصل از مطالعه ما هم‌خوانی دارد و تأیید کننده اثر مهار کنندگی و کشندگی عصاره‌های جفت بلوط، پسته وحشی و سنجد علیه *پسدوموناس آئروژینوزا* می‌باشد. تفاوت جزئی در مقادیر MIC و MBC به دست آمده از این مطالعه با سایر مطالعه‌ها احتمالاً به دلیل استفاده از قسمت‌های متفاوت گیاه مانند برگ‌ها، میوه، گل، صمغ، تفاوت در گونه گیاه و نوع سویه میکروبی مورد مطالعه می‌باشد.

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که عصاره متانولی جفت بلوط، پسته وحشی و سنجد در شرایط آزمایشگاهی علاوه بر اثر ضد باکتریایی دارای اثر ضد بیوفیلمی علیه *پسدوموناس آئروژینوزا* بودند و باعث کاهش تشکیل بیوفیلم این باکتری گردیدند و با توجه به این که مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی روز به روز در حال افزایش است و تشکیل بیوفیلم به وسیله *پسدوموناس آئروژینوزا* باعث افزایش مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها می‌شود، احتمالاً با مطالعه‌های بیشتر و کارهای بیشتر بر روی این

REFERENCES

1. Vaez H, Faghri J, Esfahani BN, Moghim S, Fazeli H, et al. Antibiotic resistance patterns and genetic diversity in clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from patients of a referral hospital, Isfahan, Iran. *Jundishapur journal of microbiology* 2015; 8(8): 1-6.
2. Shaikh S, Fatima J, Shakil S, Rizvi SMD, Kamal MA. Prevalence of multidrug resistant and extended spectrum beta-lactamase producing *Pseudomonas aeruginosa* in a tertiary care hospital. *Saudi Journal of Biological Sciences* 2015; 22: 62-4.
3. Khalifa ABH, Moissenet D, Thien HV, Khedher M. Les facteurs de virulence de *Pseudomonas aeruginosa*: mécanismes et modes de régulations. *Proc. Annales De Biologie Clinique* 2011; 69(5): 393-403.
4. Oglesby-Sherrouse AG, Djapgne L, Nguyen AT, Vasil AI, Vasil ML. The complex interplay of iron, biofilm formation, and mucoidy affecting antimicrobial resistance of *Pseudomonas aeruginosa*. *Pathogens and Disease* 2014; 70(3): 307-20.
5. Ghotaslou R, Salahi Eshlaqghi B. Biofilm of *Pseudomonas aeruginosa* and new preventive measures and anti-biofilm agents. *J Rafsanjan Univ Med Sci* 2013; 12(9): 747-68.
6. Ulloa-Urizar G, Aguilar-Luis MA, De Lama-Odría MdC, Camarena-Lizarzaburu J, del Valle Mendoza J. Antibacterial activity of five Peruvian medicinal plants against *Pseudomonas aeruginosa*. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 2015; 11(5): 928-31.
7. Mohsenipour Z, Hassanshahian M. The antimicrobial effects of the alcoholic extracts of pomegranate (*Punica granatum*) on the planktonic forms and biofilm structures of six pathogenic bacteria. *J Babol Univ Med Sci* 2015; 17(1): 77-84.
8. Mirabolfathy M. Outbreak of charcoal disease on *Quercus* SPP. and *Zelkova Carpinifolia* trees in forests of Zagros and Alborz mountains in Iran. *Iranian Journal of Plant Pathology* 49: 257-63.
9. Nikrooze L, Jafari Barmak M, Naghmachi M, Dehghani N. Study of Jaft aqueous extract and silver sulfadiazine on burn healing in male rat. *Armaghane Danesh* 2013; 18: 107-14.
10. Ghaderi Ghahfarokhi M, Sadeghi Mahoonak A, Alami M, Ghorbani M, Azizi M. Determination of antiradical activity. *Reducing power and total antioxidant activity of phenolic extracts of acorn fruit (Q. branti ver persica)*. *Journal of Food Research* 2011; 21: 93-104.
11. Hosseini F, Adlgostar A, Sharifnia F. Antibacterial activity of *Pistacia atlantica* extracts on *Streptococcus mutans* biofilm. *Int Res J Biological Sci* 2013; 2(2):1-7.
12. Moezzi N, Varzi H, Shirali S. Comparing the effect of *elaegnus angustifolia* L. Extract and *Lowsonia intermis* L. paste, with silver sulfadiazine ointment on wound healing in rat. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants* 2009; 25(2): 253-60.
13. Mansouri S, Safa A, Najar SG, Najar AG. Inhibitory activity of Iranian plant extracts on growth and biofilm formation by *Pseudomonas aeruginosa*. *Malaysian J Microbiol* 2013; 9(2): 176-83.
14. Borjian-Borujeni S, Kaveh Baba Heidari E, Mortezaei S, Borjian-Borujeni M, Validi M. Study antibacterial effects of hydroalcoholic extract of acorn fruit's (*Quercus branti*) against *Listeria monocytogenes* and *Enterococcus faecalis* in vitro. *J Shahrekord Univ Med Sci* 2016; 17: 98-106.
15. Azizian MI, Pakzad I, Azizian R, Azizi Jalilian FR, Taherikalani M, Sadeghifard N, MAHMADI Kartalaie M, et al. Antibacterial effect of hydro-extract of *pistacia atlantica* on bacteria in vitro. *Biomedical & Pharmacology Journal* 2013; (6)2, 133-136.
16. Jamehdor S, Zarabi M, Mehrnejad F. In vitro Evaluation of antibacterial efficacy of aqueous extracts of Iranian Native Plants on the Standard Strains of *Pseudomonas aeruginosa*. *Iranian Journal of Medical Microbiology* 2014; 8(2): 51-4.
17. Dehghan MH, Soltani J, Farnad M, Kalantar E, Kamalinejad M, Khodaii Z, et al. Characterization of an antimicrobial extract from *elaegnus angustifolia*. *International Journal of Enteric Pathogens* 2014; 2(3): 1-4.
18. Valle DL, Andrade JI, Puzon JJM, Cabrera EC, Rivera WL. Antibacterial activities of ethanol extracts of Philippine medicinal plants against multidrug-resistant bacteria. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 2015; 5(7): 532-40.
19. Sharifi A, Gorjipour R, Gorjipour A, Mohammadi R, Jabarnejad A. Antifungal effect of *quercus infectoria* gall (oak) on *saprolegnia* fungi. *Armaghane Danesh* 2012; 17(1): 78-84.
20. Tabatabaei Yazdi F, Alizade Behbahani B, Heidari Sureshjani M. The comparison of antimicrobial effects of *Chevil* (*Ferulago angulata*) extract with a variety of common therapeutic antibiotics in vitro. *Arak Medical University Journal* 2014; 17(3): 35-46.
21. Bokaeian M, Farazmand R, Kyghobadi S, Saeidi S. Study of the antimicrobial activity of *allium sativum* extract on *staphylococcus aureus* strains resistant to different antibiotics. *Journal Of Plant Researches (Iranian Journal of Biology)* 2015; 28(1): 34-41.

22. Akbarian J, Khomeiri M, Sadeghi MA, Mahmoodi E. Antimicrobial effect of extracts phoenix dactylifera against pathogenic bacteria and spoilage molds. *Electronic Journal of Food Processing and Preservation* 2013; 5(1): 1-12.
23. Ahmady-Asbchin S, Nasrolahi Omran A, Jafari N, Mostafapour MJ, Kia SM. Antibacterial effects of Lavandula Stoechas Essential Oil, on Gram Positive and Negative Bacteria. *Medical Laboratory Journal* 2012; 6(2): 35-41.
24. Habibipour R, Moradi Haghgou L. Study on hydro-alcoholic extract effect of pomegranate peel on pseudomonas aeruginosa biofilm formation. *Scientific Journal of Hamadan University of Medical Sciences* 2015; 22(3):195-202.
25. Chusri S, Phatthalung PN, Voravuthikunchai S. Anti-biofilm activity of Quercus infectoria G. Olivier against methicillin-resistant Staphylococcus aureus. *Letters in applied Microbiology* 2012; 54: 511-7.
26. Hobby GH, Quave CL, Nelson K, Compadre CM, Beenken KE, Smeltzer MS. Quercus cerris extracts limit Staphylococcus aureus biofilm formation. *Journal of Ethnopharmacology* 2012; 144: 812-815
27. Mohammadi-Sichani M, Karbasizadeh V, Chaharmiri Dokhaharani S. Effect of oak galls extracts on streptococcus mutans growth and biofilm formation. *Journal of Mazandaran University of Medical Sciences* 2015; 24: 161-71.
28. Judaki A, Panahi J, Havasian MR, Tajbakhsh P, Roozegar MA. Study of the inhibitory effect of Quercus Coccifera's aqueous extract on Staphylococcus aureus and Pseudomonas aeruginosa In vitro. *Bioinformation* 2014; 10(11): 689-92.
29. Ghaderi GM, Sadeghi MA, Alami M, Khomeiri M, Mamashloo S. Evaluation of antimicrobial activity of the ethanolic extracts from Q. branti and Q. Castaneifolia Fruit Against Some Food-Borne Pathogens By Microdilution Method 2012; 9(1): 81-95.
30. Shialy Z, Zarrin M, Sadeghi-Nejad B, Yusef Naanaie S. In vitro antifungal properties of Pistacia atlantica and olive extracts on different fungal species. *Current Medical Mycology* 2015; 1(4): 40-5.
31. Sabir MS, Ahmad DS, Hussain IM, Tahir KM. Antibacterial activity of Elaeagnus umbellata (Thunb.) a medicinal plant from Pakistan. *Saudi Medical Journal* 2007; 28(2): 259-63.

The Effect of Methanolic Extracts of Plants *Quercus brantii*, *Pistacia atlantica* and *Elaeagnus angustifolia* on Biofilm Formation of *Pseudomonas aeruginosa*

Omidi A¹, Sharifi A^{2*}

¹Department of Biology, Yasuj Branch, Islamic Azad University, Yasuj, Iran, ²Cellular and Molecular research center, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran

Received: 16 Oct 2016 Accepted: 16 Jan 2017

Abstract

Background and aim: Biofilm formation is one of the most notable mechanisms that contributes to antibiotic resistance in *P. aeruginosa*, The aim of this study was to determine the effects of methanol extract of *Quercus brantii*, *Pistacia atlantica*, *Elaeagnus angustifolia* Leaves on biofilm formation *P. aeruginosa* strains.

Methods: this study is an experimental study, that extraction with Maceration (powder mixed with 80% methanol) using rotary evaporator method. done. The minimum inhibitory concentration of extracts was determined by broth microdilution. Biofilm formation was investigated using the microtiter plate and stained with crystal violet. Collected data were analyzed using ANOVA and Duncan test.

Results: The minimum inhibitory concentration of *Quercus brantii*, *Pistacia atlantica*, *Elaeagnus angustifolia* extracts against *Pseudomonas aeruginosa* was 0.625 mg/ml whereas, the Minimum bactericidal concentration of *Quercus brantii* jaft was 1.25 mg/ml and for *Pistacia atlantica* and *Elaeagnus angustifolia* were 2.5 mg/ml. The mean percentage of of *Pseudomonas aeruginosa* biofilm inhibition by extracts of *Quercus brantii* (jaft), *Pistacia atlantica*, *Elaeagnus angustifolia* were 60.24, 57.35, and 72.63 % respectively.

Conclusion: Methanolic extracts of medicinal plants *Quercus brantii*, *Pistacia atlantica*, *Elaeagnus angustifolia* has anti-bacterial and anti-biofilm effect against *Pseudomonas aeruginosa*. So that *Elaeagnus angustifolia* extract had a capability to inhibit biofilm formation and also showed a significant difference compare to *Quercus brantii* jaft, *Pistacia atlantica* extract. With further study it can be used of these extracts as a supplement to inhibit bacterial biofilm.

Key words: *Pseudomonas aeruginosa*, biofilm, *Quercus brantii*, *Pistacia atlantica*, *Elaeagnus angustifolia*

*Corresponding Author: Sharifi A, Cellular and Molecular research center, Faculty of Medicine, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran
Email: asgharsharifi@yahoo.com

Please cite this article as follows:

Omidi A, Sharifi A. The Effect of Methanolic Extracts of Plants *Quercus brantii*, *Pistacia atlantica* and *Elaeagnus angustifolia* on Biofilm Formation of *Pseudomonas aeruginosa*. Armaghane-danesh 2017; 21 (10): 999-1012.