

تأثیر آنتی باکتریال عصاره هیدروالکلی گیاه هلیپه (*Teucrium polium* L.) بر سویه‌های استاندارد و بالینی اشریشیاکلی در مقایسه با آنتی بیوتیک‌های متداول

سید جواد هدایت^۱، هادی ابراهیمی^۱، اصغر شریفی^۲، اورنگ ایلامی^۳، ذاکر سعیدی نژاد^۴، سید محمد خسروانی^۱، سید عبدالمجید خسروانی^{۵*}
^۱ کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، یاسوج، ایران، ^۲ مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، یاسوج، ایران، ^۳ مرکز تحقیقات ایدز، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران، ^۴ گروه داخلی، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، یاسوج، ایران

تاریخ وصول: ۱۴۰۴/۰۱/۲۴ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۷/۲۱

چکیده

زمینه و هدف: عفونت‌های ادراری از شایع‌ترین بیماری‌های عفونی هستند که اغلب به واسطه باکتری اشریشیاکلی (*Escherichia coli*) ایجاد می‌شوند. افزایش مقاومت آنتی‌بیوتیکی این باکتری به دلیل مصرف گسترده آنتی‌بیوتیک‌ها و انتقال ژن‌های مقاومت، چالش‌های درمانی را تشدید کرده است. گیاه هلیپه (*Teucrium polium* L.) به دلیل دارا بودن ترکیبات فعال زیستی، از جمله؛ مونوترپن‌ها و پلی‌فنول‌ها، در طب سنتی مورد توجه بوده است، لذا هدف از این مطالعه تعیین و بررسی آنتی‌باکتریال عصاره هیدروالکلی گیاه هلیپه (*Teucrium polium* L.) بر سویه‌های استاندارد و بالینی اشریشیاکلی در مقایسه با آنتی‌بیوتیک‌های متداول بود.

روش بررسی: این یک مطالعه تجربی می‌باشد که به وسیله عصاره هیدروالکلی گیاه هلیپه با روش خیساندن از نمونه‌های جمع‌آوری شده در شهر یاسوج تهیه گردید. سویه استاندارد اشریشیاکلی (ATCC 25922) و سویه‌های بالینی جدا شده از بیماران مبتلا به عفونت ادراری بررسی شدند. حساسیت سویه‌ها به آنتی‌بیوتیک‌های نیتروفورانتوئین، جنتامایسین، کوتریماکسازول، سفپییم، سفتریاکسون و سیپروفلوکساسین با روش دیسک دیفیوژن ارزیابی شد. اثر آنتی‌باکتریال عصاره با تعیین حداقل غلظت مهار (MIC) و حداقل غلظت باکتری کشی (MBC) به روش رقیق سازی در میکروپلیت و اندازه‌گیری قطر هاله عدم رشد (ZOI) سنجیده شد. داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از آزمون‌های آماری کولموگروف - اسمیرنوف، آنالیز واریانس یک طرفه، تی مستقل و آنالیز واریانس با اندازه‌گیری‌های مکرر تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: هر دو سویه استاندارد و بالینی اشریشیاکلی به آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده حساس بودند. MIC عصاره هلیپه برای سویه استاندارد ۶۲/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر و برای سویه‌های بالینی ۳۱/۲۵ تا ۶۲/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود. MBC در محدوده ۱۲۵ تا ۲۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر قرار داشت. تفاوت آماری معنی‌داری بین MIC و MBC سویه‌های استاندارد و بالینی مشاهده نشد ($p > 0.05$). قطر هاله عدم رشد در سویه استاندارد بزرگ‌تر از سویه‌های بالینی بود، اما این تفاوت معنی‌دار نبود ($p > 0.05$). عصاره گیاه هلیپه اثر آنتی‌باکتریال قابل توجهی نشان داد، هر چند شدت آن نسبت به برخی آنتی‌بیوتیک‌ها کمتر بود.

نتیجه‌گیری: عصاره هیدروالکلی گیاه هلیپه پتانسیل آنتی‌باکتریال علیه اشریشیاکلی را دارد و می‌تواند به عنوان مکمل طبیعی در برابر مقاومت آنتی‌بیوتیکی مورد استفاده قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: عفونت‌های ادراری، گیاه هلیپه، اشریشیاکلی، عصاره گیاهی، مقاومت دارویی

* نویسنده مسئول: سید عبدالمجید خسروانی، یاسوج، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی

Email: khosravani2us@yahoo.com

"نشریه علمی پژوهشی ارمغان دانش وابسته به دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، یک نشریه با دسترسی آزاد است و تمامی مقالات منتشر شده در این نشریه به صورت دسترسی آزاد منتشر می‌شوند."

مقدمه

عفونت های ادراری از شایع ترین عفونت ها در جوامع مختلف به شمار می روند. شیوع این عفونت ها در افراد مسن و زنان جوان بیشتر است. عامل اصلی این عفونت ها، باکتری اشریشیاکلی (*Escherichia coli*) از خانواده انتروباکتریاسه است که بیش از ۷۰ درصد موارد را تشکیل می دهد (۱ و ۲). برای درمان این عفونت های باکتریایی از آنتی بیوتیک های متنوعی استفاده می شود، ولی استفاده بیش از حد از این داروها، به ظهور مقاومت در میان این عوامل عفونی منجر شده است. پیش تر، تصور بر این بود که انتقال مقاومت آنتی بیوتیکی در باکتری ها عمدتاً از طریق کونژوگاسیون و ترانسداکشن به واسطه پلاسمیدها، فاژها و ترانسپوزون های حامل ژن های مقاومت انجام می شود، اما در سال های اخیر، مکانیسم جدیدی برای انتقال ژن های مقاومت آنتی بیوتیکی شناسایی شد که به وسیله عناصری به نام اینتگرون ها صورت می گیرد. نقش اینتگرون ها به عنوان عناصر ژنتیکی متحرک در انتقال افقی مقاومت آنتی بیوتیکی تأیید شده است (۳ و ۴). اینتگرون ها در پلاسمیدها، کروموزوم ها و ترانسپوزون ها یافت می شوند. این عناصر در توسعه مقاومت های چندگانه نقش دارند. پنج کلاس مختلف از اینتگرون ها شناسایی شده اند که اینتگرون های کلاس ۱ به طور رایج در جدایه های بالینی باسیل های گرم منفی، از جمله اشریشیاکلی، مشاهده شده و به گسترش مقاومت چندگانه آنتی بیوتیکی و ایجاد چالش های درمانی جدی در

سطح جهانی منجر شده اند (۵-۷). ارتباطی قوی بین حضور اینتگرون ها و افزایش مقاومت به چندین کلاس گوناگون آنتی بیوتیکی وجود دارد. ژن های مقاومت روی اینتگرون ها قرار دارند و می توانند از یک سویه به سویه دیگر منتقل شوند و مقاومت را در بیمارستان ها و سایر محیط های درمانی گسترش دهند (۸ و ۷). اشریشیاکلی عامل مهمی در عفونت های بیمارستانی دستگاه ادراری است و طیف بیماری زایی آن از سیستیت تا پیلونفریت متغیر است. زنان معمولاً در دوران نوجوانی بیشتر مبتلا می شوند، در حالی که مردان در سنین بالاتر دچار عفونت می شوند. استفاده از سوند در دستگاه ادراری و دیابت از عوامل مؤثری در بروز عفونت های دستگاه ادراری ناشی از اشریشیاکلی هستند. اشریشیاکلی مانند سایر پاتوژن های فرصت طلب، می تواند جریان خون را از محل عفونت اولیه آلوده کند و در بسیاری از بیمارستان ها عامل اصلی سپسیس گرم منفی است و قادر به ایجاد شوک اندوتوکسمینی است (۹). اخیراً، مجامع علمی و پزشکی جهانی به این نتیجه رسیده اند که روش های طب سنتی، مشابه روش های مدرن، می توانند در تشخیص و درمان بیماری ها مؤثر باشند. گیاهان همواره یکی از منابع اصلی دارویی بوده اند که به صورت سنتی یا به شکل فرآورده های شیمیایی خالص مورد استفاده قرار می گیرند. به همین دلیل، سازمان بهداشت جهانی فهرست جامعی از گیاهان دارویی و عصاره آنها منتشر کرده است. بر اساس گزارش سازمان بهداشت جهانی، حدود ۴ میلیارد نفر،

معادل ۸۰ درصد جمعیت جهان، از داروهای گیاهی به عنوان بخشی از درمان خود استفاده می‌کنند. ایران با برخورداری از ۱۱ اقلیم متنوع آب و هوایی و بیش از ۷۵۰۰ گونه گیاهی، بستری مناسب برای دسترسی به گونه‌های دارویی ارزشمند و نادر فراهم کرده است. در حال حاضر، ۲۵ درصد از داروهای موجود منشأ گیاهی دارند و ۱۲ درصد از آنها از منابع میکروبی تولید شده‌اند (۱۰). گیاه هلپه با نام علمی *Teucrium polium L.* از تیره نعنائیان (Lamiaceae)، گیاهی علفی، خوشبو و معطر است که با نام های فارسی کلپوره همدانی و مریم نخودی همدانی و همچنین با اسامی عربی مسک الجن و حشیشه الريح شناخته می‌شود. این گیاه پایا و منشعب تا ارتفاع ۴۰ سانتی‌متر رشد می‌کند. برگ‌های آن کشیده و دندان‌دار بوده و تمام قسمت‌های آن با کرک‌های بلند و سفید پوشیده شده است که به همین دلیل رنگ نقره‌ای دارد. این گیاه معمولاً در نواحی بایر، سواحل سنگلاخی و ماسه زارهای مناطق مختلف اروپا، مدیترانه، شمال آفریقا و جنوب غربی آسیا، از جمله ایران، رویش دارد. این گیاه در ایران در مناطق مختلف شمال، غرب، جنوب و مرکز ایران، منطقه البرز و کوهستان‌های نیمه خشک، پراکندگی گسترده‌ای دارد (۱۱). بخش‌های مورد استفاده این گیاه شامل بوته و سرشاخه‌های گلدار آن است. گیاه هلپه دارای ۳۰۰ گونه شناسایی شده است (۱۲). گونه‌های این جنس سرشار از ترکیبات فعال زیستی مانند؛ مونوترپن‌ها، سسکوئیترن‌ها، آلکالوئیدها، ساپونین، ترکیبات

پلی‌فنولی، اسیدهای چرب، استرول (۱۴ و ۱۳) و اسانس‌های فرار هستند که اصلی‌ترین ترکیبات این اسانس‌ها شامل ژرمارکین دی بتا کاریوفیلن، هرمولن و کاریوفیلن اکساید است (۱۱)، لذا هدف از این مطالعه تعیین و بررسی آنتی‌باکتریال عصاره هیدروالکلی گیاه هلپه (*Teucrium polium L.*) بر سویه‌های استاندارد و بالینی اشریشیاکلی در مقایسه با آنتی‌بیوتیک‌های متداول بود.

روش بررسی

این یک مطالعه تجربی می‌باشد که در سال ۱۳۹۹ انجام شد، تمامی مراحل در آزمایشگاه و در شرایط کنترل شده اجرا گردید. گیاه هلپه مورد استفاده در این پژوهش از مزارع اطراف شهر یاسوج واقع در استان کهگیلویه و بویراحمد با شماره هرباریومی ۲۷۰۴ جمع‌آوری و جهت تهیه عصاره هیدروالکلی از برگ‌ها و ساقه آن استفاده شد. این منطقه به دلیل شرایط اقلیمی معتدل و خاک غنی، برای رشد این گیاه مناسب شناخته شده است. جمع‌آوری نمونه‌ها در شرایط خشک و بدون بارندگی انجام شد تا از آلودگی‌های محیطی کاسته شود. پس از جمع‌آوری، گیاهان با آب مقطر شست و شو داده شدند تا هر گونه آلودگی سطحی مانند گرد و غبار یا بقایای حشرات حذف گردد. سپس نمونه‌ها به قطعات کوچک تقسیم شده و به مدت ۳۰ روز در سایه خشک شدند. خشک کردن در سایه به منظور حفظ ترکیبات فعال زیستی گیاه و جلوگیری از تخریب آنها در اثر

درجه سانتی‌گراد ذخیره شدند. برای تهیه سوسپانسیون باکتریایی جهت انجام آزمایشات، ۵ کلنی از کشت ۱۸-۲۰ ساعته باکتری در ۵ میلی‌لیتر محیط مولر هینتون برات (MHB) معلق شدند و با استفاده از ورتکس یکنواخت گردیدند. کدورت سوسپانسیون با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۳۰ نانومتر اندازه‌گیری شد و با استاندارد نیم مک‌فارلند ($10^8 \times 1/5$) واحد تشکیل کلنی در میلی لیتر) تنظیم گردید. این مرحله با استفاده از MHB خالص به عنوان شاهد برای صفر کردن دستگاه انجام شد. برای ارزیابی ZOI، سوسپانسیون باکتریایی با سوآپ استریل روی محیط مولر هینتون آگار (MHA) کشت داده شد. به منظور تعیین وضعیت حساسیت سویه‌های اشریشیاکلی مورد مطالعه از دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی شامل نیتروفرانتونین (۳۰۰ میکروگرم)، جنتامایسین (۱۰ میکروگرم)، کوتریموکسازول (۳۰ میکروگرم)، سفپیم (۳۰ میکروگرم)، سفتریاکسون (۳۰ میکروگرم) و سیپروفلوکساسین (۵ میکروگرم) تهیه شده از شرکت پادتن طب ایران که با فاصله ۲/۵ سانتی‌متری از یکدیگر قرار گرفتند، استفاده شد که پس از انکوباسیون ۲۴ ساعته در ۳۷ درجه سانتی‌گراد، قطر هاله عدم رشد (ZOI) اندازه‌گیری و بر اساس جداول استاندارد مربوطه که به همراه دیسک‌های آنتی‌بیوتیک وجود داشت، حساسیت سویه‌ها با عناوین حساس، نیمه‌حساس یا مقاوم ثبت شد. فعالیت ضد باکتریایی عصاره هیدروالکلی گیاه هلیه با استفاده از چندین روش استاندارد شامل تعیین

نور مستقیم خورشید انجام شد. برای تهیه عصاره و استخراج ترکیبات فعال گیاه هلیه، از روش خیساندن (ماسیراسیون) استفاده شد. به این منظور، ابتدا ۵۰ گرم از نمونه خشک شده و همگن شده در ۱۰۰۰ میلی‌لیتر اتانول ۷۰ درصد به مدت ۴۸ ساعت روی شیکر مغناطیسی قرار گرفت تا استخراج بهینه انجام شود. پس از آن، عصاره حاصل با استفاده از کاغذ صافی واتمن شماره ۱ فیلتر شد تا ذرات جامد جدا شوند. سپس حلال اتانولی با استفاده از دستگاه روتاری اپراتور در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد و تحت خلاء تغلیظ گردید. عصاره تغلیظ شده در نهایت در ظروف استریل و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد تا زمان انجام آزمایش‌ها نگهداری شد. در این مطالعه، سویه استاندارد باکتری اشریشیاکلی (ATCC 25922) از بخش میکروبی‌شناسی دانشگاه علوم پزشکی تهران تهیه شد. همچنین، سویه‌های بالینی اشریشیاکلی نیز از نمونه‌های ادراری بیماران مبتلا به عفونت ادراری مراجعه‌کننده به بیمارستان امام سجاد (ع) یاسوج جدا شدند. جداسازی با استفاده از تست‌های بیوشیمیایی کاتالاز، اکسیداز، سیترات، اندول، متیل رد (MR)، و ژس - پروسکوئر (VP) و TSI انجام شد (۲۱-۱۵). تمامی تست‌ها بر اساس پروتکل‌های استاندارد میکروبیولوژی انجام شدند. برای نگهداری طولانی‌مدت سویه‌ها، ابتدا کلنی‌های خالص در محیط تریپتیک سوی برات (TSB) تلقیح شده و پس از انکوباسیون ۲ ساعته در ۳۷ درجه سانتی‌گراد، با افزودن گلیسرول استریل ۲۰ درصد، در دمای ۲۰-

حداقل غلظت بازدارندگی (MIC)، حداقل غلظت کشندگی (MBC) و قطر هاله عدم رشد (ZOI) بررسی شد. برای تعیین حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) عصاره هیدروالکی هله از روش رقیق سازی در میکروپلیت ۹۶ خانه ای استفاده شد. ابتدا ۹۵ میکرولیتر مولر هینتون براث (MHB) در هر چاهک ریخته شد. سپس، ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره با غلظت اولیه ۲۰۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر به چاهک اول اضافه گردید و رقیق سازی سریالی (۱:۲) تا چاهک هفتم انجام شد. چاهک هشتم به عنوان کنترل مثبت (فقط باکتری و محیط کشت) و یک ردیف جداگانه به عنوان کنترل منفی (عصاره و محیط کشت بدون باکتری) در نظر گرفته شد. در ادامه، ۵ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتریایی به تمام چاهکها اضافه شد. میکروپلیت ها به مدت ۱۸-۲۴ ساعت در انکوباتور شیکردار و در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه شدند. کدورت چاهکها به صورت چشمی بررسی شد (۲۲). کمترین غلظتی که هیچ کدورتی در آن مشاهده نشد، به عنوان MIC ثبت گردید. برای ارزیابی ZOI عصاره، سوسپانسیون باکتریایی با سوآپ استریل روی مولر هینتون آگار (MHA) به صورت یکنواخت کشت داده شد. دیسکهای بلانک (شرکت پادتن طب، ایران) بر روی پلیت قرار گرفتند و ۴۰ میکرولیتر از غلظت MIC عصاره به هر دیسک اضافه شد. دیسک جنتامایسین (۱۰ میکروگرم) به عنوان کنترل مثبت و دیسک حاوی ۴۰ میکرولیتر دی متیل سولفوکساید (DMSO) به عنوان کنترل منفی استفاده

شد (۲۳). پلیت ها به مدت ۱۸-۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه شدند و قطر هاله عدم رشد به وسیله خط کش میلی متری اندازه گیری شد. برای تعیین MBC، از چاهکهای بدون کدورت در آزمایش MIC نمونه برداری شد و ۱۰ میکرولیتر از هر چاهک بر روی محیط مولر هینتون آگار (MHA) کشت داده شد. پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد، کمترین غلظتی که منجر به از بین رفتن ۹۹/۹ درصد باکتری ها شد، به عنوان MBC گزارش گردید (۲۴-۲۶). در روش چاهکی، پس از کشت یکنواخت سوسپانسیون باکتریایی بر روی مولر هینتون آگار (MHA)، چاهکهایی با قطر ۶ میلی متر با استفاده از پیپت پاستور ایجاد شدند. سپس، ۶۰ میکرولیتر از غلظت MIC عصاره به هر چاهک اضافه شد. دیسک جنتامایسین (۱۰ میکروگرم) و دیسک حاوی ۲۰ میکرولیتر DMSO به ترتیب به عنوان کنترل مثبت و منفی استفاده شدند. قطر هاله عدم رشد پس از ۱۸-۲۴ ساعت انکوباسیون در ۳۷ درجه سانتی گراد، اندازه گیری شد (۲۳). به منظور بررسی تفاوت های آماری بین فعالیت ضد باکتریایی عصاره هیدروالکی گیاه هله علیه سویه استاندارد اشریشیاکلی (ATCC ۲۵۹۲۲) و سویه های بالینی، از آزمون آماری تی مستقل استفاده شد.

داده های جمع آوری شده با استفاده از نرم افزار آماری SPSS و آزمون های کولموگروف-اسمیرنف (برای بررسی توزیع نرمال داده ها)، تی

مستقل، آنالیز واریانس یک طرفه و آنالیز واریانس با اندازه‌گیری‌های مکرر تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها

نتایج بررسی حساسیت سویه استاندارد اشريشياکلی (ATCC 25922) و سویه‌های بالینی جدا شده از نمونه‌های کلینیکی نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های رایج با استفاده از روش دیسک دیفیوژن نشان داد که هر دو گروه به طیف وسیعی از آنتی‌بیوتیک‌ها حساسیت دارند. بر اساس داده‌های جدول ۱، سویه استاندارد و بالینی به دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی شامل: نیتروفورانتوئین (۳۰۰ میکروگرم)، جنتامایسین (۱۰ میکروگرم)، کوتریموکسازول (۳۰ میکروگرم)، سفپیم (۳۰ میکروگرم)، سفتریاکسون (۳۰ میکروگرم) و سیپروفلوکساسین (۵ میکروگرم) حساس (S) بودند. علت انتخاب دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی حاضر، بررسی اثر عصاره هیدروالکلی گیاه هلیه و مقایسه آن با طیف وسیعی از عوامل آنتی‌بیوتیکی بود. این یافته‌ها نشان‌دهنده اثربخشی بالای این آنتی‌بیوتیک‌ها در مهار رشد سویه‌های مورد مطالعه است. بر اساس داده‌های تجربی حاصل شده، بیشترین و کمترین قطر هاله عدم رشد برحسب میلی‌متر برای سویه استاندارد مربوط به سیپروفلوکساسین (۳۶ میلی‌متر) و جنتامایسین (۲۳ میلی‌متر) و برای سویه‌های بالینی مربوط به سفپیم (۳۰/۸ میلی‌متر) و نیتروفورانتوئین (۱۹/۵ میلی‌متر) بود. به منظور ارزیابی اثر ضد باکتریایی عصاره هیدروالکلی گیاه هلیه بر سویه‌های استاندارد

و بالینی اشريشياکلی، حداقل غلظت مهاري (MIC) با استفاده از روش میکروبراث دایلوژن تعیین شد. نتایج این آزمایش‌ها در جدول ۲ ارائه شده است. بر اساس این داده‌ها، MIC برای سویه استاندارد اشريشياکلی (ATCC 25922) برابر با ۶۲/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود. در مقابل، MIC برای سویه‌های بالینی در محدوده ۶۲/۵ تا ۱۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر متغیر بود. به طور دقیق‌تر، از میان سویه‌های بالینی مورد بررسی، سه سویه دارای MIC برابر با ۶۲/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر و دو سویه دارای MIC برابر با ۱۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر بودند. این تنوع در MIC سویه‌های بالینی ممکن است به تفاوت‌های ژنتیکی یا شرایط محیطی رشد این سویه‌ها مرتبط باشد. برای بررسی تفاوت آماری بین MIC سویه‌های استاندارد و بالینی، از آزمون تی‌تک نمونه‌ای استفاده شد. نتایج این آزمون نشان داد که تفاوت معنی‌داری میان MIC سویه استاندارد و سویه‌های بالینی وجود ندارد ($p > 0.05$). این یافته حاکی از آن است که عصاره هیدروالکلی گیاه هلیه اثری مشابه بر هر دو نوع سویه دارد و می‌تواند به طور یکسان رشد آن‌ها را مهار کند. علاوه بر این، تحلیل آماری نشان داد که تفاوت بین غلظت‌های مختلف عصاره در مهار رشد سویه‌های بالینی از نظر آماری معنی‌دار است ($p < 0.05$). این نتیجه بیان‌گر آن است که افزایش غلظت عصاره هیدروالکلی گیاه هلیه به طور مستقیم با افزایش اثر مهاری آن بر سویه‌های بالینی اشريشياکلی مرتبط است. حداقل غلظت باکتری‌کشی (MBC) عصاره

هیدروالکی گیاه هلپه نیز برای سویه‌های استاندارد و بالینی اشریشیاکلی تعیین شد و نتایج در نمودار ۱ ارائه شده است. بر اساس این داده‌ها، MBC برای سویه استاندارد و بالینی در محدوده ۲۵۰ تا کمتر از ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر قرار داشت. به طور خاص، MBC برای سویه استاندارد ۲۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر و برای سویه‌های بالینی متغیر بود، به طوری که سه سویه دارای MBC برابر با ۲۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر و دو سویه دارای MBC کمتر از ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بودند. این نتایج نشان‌دهنده توانایی عصاره هیدروالکی گیاه هلپه در از بین بردن کامل سویه‌های اشریشیاکلی در غلظت‌های نسبتاً پایین است. تحلیل آماری با استفاده از آزمون تی تک‌نمونه‌ای نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین MBC سویه استاندارد و سویه‌های بالینی وجود ندارد ($p > 0.05$). این یافته تأیید می‌کند که عصاره هیدروالکی گیاه هلپه نه تنها قادر به مهار رشد باکتری است، بلکه می‌تواند به طور مؤثری آن را از بین ببرد. این خاصیت باکتری‌کشی عصاره، آن را به یک گزینه بالقوه برای توسعه عوامل ضد باکتریایی طبیعی تبدیل می‌کند، به ویژه در شرایطی که مقاومت باکتریایی به آنتی‌بیوتیک‌های رایج رو به افزایش است. برای بررسی اثر عصاره هیدروالکی گیاه هلپه بر قطر هاله عدم رشد در غلظت MIC، آزمایش دیسک دیفیوژن انجام شد و نتایج در نمودار ۱ و در مقایسه با حداقل غلظت باکتری‌کشی (MBC) گزارش شده است. بر اساس این داده‌ها، قطر هاله عدم رشد برای سویه

استاندارد اشریشیاکلی (ATCC 25922) در مقایسه با سویه‌های بالینی به طور ظاهری بزرگ‌تر بود. به طور دقیق‌تر، قطر هاله عدم رشد برای سویه استاندارد ۱۱/۵ میلی‌متر و برای سویه‌های بالینی در محدوده ۸/۵ تا ۱۱ میلی‌متر متغیر بود. این تفاوت ظاهری ممکن است به دلیل حساسیت بیشتر سویه استاندارد به ترکیبات فعال موجود در عصاره باشد. با این حال، تحلیل آماری با استفاده از آزمون تی تک‌نمونه‌ای نشان داد که این تفاوت از نظر آماری معنی‌دار نیست ($p > 0.05$). این نتیجه بیانگر آن است که اگرچه سویه استاندارد از نظر ظاهری هاله عدم رشد بزرگ‌تری نشان می‌دهد، اما این تفاوت به اندازه‌ای نیست که بتوان آن را از نظر آماری تأیید کرد. این یافته می‌تواند نشان‌دهنده اثر یکنواخت عصاره هیدروالکی گیاه هلپه بر هر دو نوع سویه باشد. تحلیل کلی نتایج این مطالعه نشان داد که عصاره هیدروالکی گیاه هلپه دارای اثر ضد باکتریایی قابل توجهی بر سویه‌های استاندارد و بالینی اشریشیاکلی است. این عصاره نه تنها قادر به مهار رشد باکتری در غلظت‌های پایین (MIC بین ۶۲/۵ تا ۱۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر) است، بلکه می‌تواند در غلظت‌های بالاتر (MBC بین ۲۵۰ تا کمتر از ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) به طور کامل باکتری را از بین ببرد. این خاصیت دوگانه (مهار رشد و کشتن باکتری) عصاره هیدروالکی گیاه هلپه را به یک گزینه امیدوارکننده جهت توسعه عوامل ضد باکتریایی طبیعی تبدیل می‌کند. در مقایسه با برخی آنتی‌بیوتیک‌های رایج،

و می‌تواند به عنوان پایه‌ای برای تحقیقات آینده در زمینه توسعه داروهای گیاهی مورد استفاده قرار گیرد. علاوه بر این، عدم تفاوت معنی‌دار بین سویه‌های استاندارد و بالینی از نظر MIC و MBC نشان‌دهنده پتانسیل گسترده این عصاره در کاربردهای کلینیکی است.

اگرچه شدت اثر عصاره هیدروالکلی گیاه هلیه کمتر است، اما اثربخشی آن در مهار و از بین بردن سویه‌های اشریشیاکلی، به‌ویژه در شرایطی که مقاومت آنتی‌بیوتیکی گزارش شده است، قابل توجه است. این یافته‌ها اهمیت استفاده از ترکیبات گیاهی را در مبارزه با عفونت‌های باکتریایی برجسته می‌سازد

جدول ۱: مقایسه وضعیت حساسیت سویه های اشریشیاکلی مورد مطالعه بر اساس نتایج آنتی بیوگرام

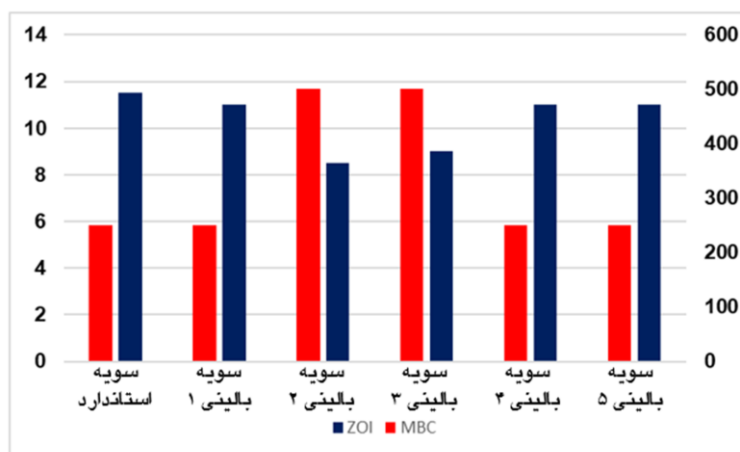
نتایج آنتی بیوگرام	سویه استاندارد	نتیجه آنتی بیوگرام بر اساس مقایسه با استاندارد CLSI	سویه های بالینی	نتیجه آنتی بیوگرام بر اساس مقایسه با استاندارد CLSI
قطر هاله عدم رشد (میلی‌متر)	قطر هاله عدم رشد (میلی‌متر)	میانگین قطر هاله عدم رشد (میلی‌متر)	میانگین قطر هاله عدم رشد (میلی‌متر)	میانگین قطر هاله عدم رشد (میلی‌متر)
نیتروفرانتونین (۳۰۰ میکروگرم)	۲۵	S	۱۹/۵	S
جنتامایسین (۱۰ میکروگرم)	۲۳	S	۲۱/۶	S
کوتریماکسازول (۲۳ میکروگرم)	۲۱	S	۲۴/۶	S
سلفپیپیم (۳۰ میکروگرم)	۳۵	S	۳۰/۸	S
سفتریاکسون (۳۰ میکروگرم)	۳۰	S	۲۸/۲	S
سیپروفلوکساسین (۵ میکروگرم)	۳۶	S	۲۳/۸	S

S: حساس

جدول ۲: حداقل غلظت مهاری (MIC) سویه های اشریشیاکلی مورد مطالعه در حضور عصاره هیدروالکلی گیاه هلیه

چاهک ها	غلظت عصاره هیدروالکلی گیاه هلیه (میکروگرم بر میلی‌لیتر)	سویه استاندارد (ATCC 25922)	سویه 1 بالینی	سویه 2 بالینی	سویه 3 بالینی	سویه 4 بالینی	سویه 5 بالینی	کنترل منفی
۱	۵۰۰	-	-	-	-	-	-	-
۲	۲۵۰	-	-	-	-	-	-	-
۳	۱۲۵	-	-	-	-	-	-	-
۴	۶۲/۵۰	-	-	+	+	-	-	-
۵	۳۱/۲۵	+	+	+	+	+	+	-
۶	۱۵/۶۰	+	+	+	+	+	+	-
۷	۷/۸۰	+	+	+	+	+	+	-
۸	کنترل مثبت	+	+	+	+	+	+	-

(+): رشد میکروارگانیسم / (-): عدم رشد میکروارگانیسم



نمودار ۱: مقایسه حداقل غلظت باکتری‌کشی (MBC) و قطر هاله عدم رشد (ZOI) سویه‌های اشریشیاکلی مورد مطالعه در حضور عصاره هیدروالکلی گیاه هلپه در غلظت MIC، به روش چاهک

بحث

آنتی‌بیوتیک‌ها، به یکی از موضوعات مورد توجه در پژوهش‌های پزشکی تبدیل شده است. مطالعه حاضر با هدف بررسی الگوی حساسیت و مقاومت سویه‌های استاندارد و بالینی اشریشیاکلی به آنتی‌بیوتیک‌های رایج و عصاره هیدروالکلی گیاه هلپه انجام شد. نتایج نشان داد که سویه استاندارد اشریشیاکلی (ATCC 25922) در مقایسه با جدایه‌های بالینی، حساسیت بیشتری نسبت به آنتی‌بیوتیک‌هایی نظیر: نیتروفوران‌توئین، کوتریموکسازول، جنتامایسین و سایر داروهای متداول دارد. این تفاوت در حساسیت با اندازه‌گیری قطر هاله عدم رشد تأیید شد، به طوری که سویه استاندارد هاله‌های بزرگتری را نسبت به جدایه‌های بالینی ایجاد کرد. به عنوان مثال، جدایه شماره ۲ به کوتریموکسازول و جدایه شماره ۳ به سفتریاکسون مقاومت کامل نشان دادند. این یافته‌ها با نتایج کسمائی و همکاران (۷) در خصوص مقاومت دارویی چندگانه اشریشیاکلی در بیماران سرپایی

عفونت‌های مجاری ادراری جزو شایع‌ترین بیماری‌های عفونی در سطح جوامع محسوب می‌شوند. میزان بروز این عفونت‌ها در زنان جوان و سالمندان بالاتر است. اشریشیاکلی، باکتری گرم منفی از خانواده انتروباکتریاسه، عامل عمده این عفونت‌ها بوده و مسئول بیش از ۷۰ درصد موارد ابتلا به این عفونت می‌باشد (۱ و ۲)، لذا هدف از این مطالعه تعیین و بررسی آنتی‌باکتریال عصاره هیدروالکلی گیاه هلپه (*Teucrium polium L.*) بر سویه‌های استاندارد و بالینی اشریشیاکلی در مقایسه با آنتی‌بیوتیک‌های متداول بود.

عفونت ادراری، که پس از عفونت‌های دستگاه تنفسی دومین عفونت شایع در جهان محسوب می‌شود (۲۷)، سالیانه حدود ۱۵۰ میلیون نفر را در سراسر جهان تحت تأثیر قرار می‌دهد (۲۸). این بیماری به دلیل شیوع بالا و افزایش مقاومت باکتریایی به

مبتلا به عفونت های ادراری در تهران هم راستا است. همچنین، شریفی و همکاران (۲۹) در مطالعه‌ای بر روی ۱۲۰ جدایه اشیریشیاکلی، مقاومت بالایی به کوتریماکسازول را گزارش کردند که با مشاهدات این پژوهش سازگار است. یکی از جنبه‌های کلیدی این مطالعه، بررسی اثر ضد باکتریایی عصاره هیدروالکی گیاه هلیه بر سویه‌های مختلف اشیریشیاکلی بود. نتایج نشان داد که جدایه‌های بالینی شماره ۲ و ۳ در مقایسه با سویه استاندارد، قطر هاله عدم رشد بزرگتری در برابر این عصاره داشتند و در نتیجه حساسیت بیشتری به آن نشان دادند. با این حال، تحلیل یافته‌های استنباطی پژوهش تفاوت معنی‌داری از نظر آماری بین سویه‌های استاندارد و بالینی در این زمینه نشان نداد ($p > 0.05$). این عدم تفاوت آماری ممکن است به حجم نمونه محدود در این مطالعه نسبت داده شود، که می‌تواند قدرت آماری لازم برای تشخیص تفاوت‌های واقعی را کاهش داده باشد. با وجود این، مشاهده شد که جدایه‌های بالینی نسبت به عصاره هلیه حساسیت کمتری دارند. این پدیده می‌تواند به کسب ژن‌های مقاومت به وسیله این جدایه‌ها از طریق مکانیسم‌هایی نظیر انتقال پلاسمید یا ترانسپوزون مرتبط باشد (۳۰). چنین مکانیسم‌هایی در محیط‌های بالینی، که باکتری‌ها به طور مداوم در معرض عوامل ضد میکروبی قرار دارند، شایع هستند و می‌توانند اثر بخشی ترکیبات طبیعی را تحت تاثیر قرار دهند. ترکیبات شیمیایی موجود در گیاه هلیه، از جمله تانن‌ها، ترپنوئیدها، ساپونین‌ها، استرول‌ها،

فلاونوئیدها و لوکوآنتوسیانین‌ها، به عنوان عوامل بالقوه ضد باکتریایی شناخته شده‌اند. صمدی پور و همکاران گزارش کردند که این عصاره بر اکثر باکتری های مورد آزمایش، از جمله اشیریشیاکلی، اثر مهاری دارد، اما فاقد فعالیت ضد قارچی است (۳۱). در مقابل، قاسم پور و همکاران در مطالعه‌ای در خصوص اثرات درمانی گیاه هلیه در درمان عفونت کاندیدائی زنان در شهرستان سپیدان، گزارش کردند که 72 درصد از زنان پس از استفاده صحیح از این گیاه به طور کامل بهبود یافتند (۳۲). این یافته با گزارش صمدی پور و همکاران (۳۱) مبنی بر فقدان اثر ضد قارچی در تضاد است و می‌تواند به تفاوت در روش های آزمایش، غلظت عصاره، یا شرایط محیطی و فیزیولوژیکی مرتبط باشد. این تناقضات، ضرورت بررسی دقیق تر دامنه اثرات این گیاه را برجسته تر می‌کند. در این مطالعه، حداقل غلظت باکتری کشی (MBC) عصاره هیدروالکی هلیه در سویه استاندارد اشیریشیاکلی (ATCC 25922) به طور قابل توجهی کمتر از جدایه‌های بالینی بود (۳۳)، که نشان دهنده حساسیت بالاتر این سویه است. این مشاهدات با اندازه‌گیری حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) نیز تأیید شد، به طوری که MIC سویه استاندارد ۶۲/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر و MBC آن ۲۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود، در حالی که برای جدایه‌های بالینی این مقادیر به ترتیب به ۱۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر و بیش از ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر افزایش یافت. این تفاوت‌ها می‌توانند به شرایط کنترل شده سویه

استاندارد در مقابل مواجهه مکرر جدایه‌های بالینی با عوامل محیطی و درمانی نسبت داده شوند. مقایسه این نتایج با پژوهش‌های دیگران تنوع قابل توجهی را نشان می‌دهد. برای مثال، گروبی و همکاران (۳۴) MIC عصاره اتانولی برگ کلپوره را بر اشیریشیاکلی ۲۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر گزارش کردند که بسیار بالاتر از مقادیر مشاهده‌شده در این مطالعه است. این اختلاف ممکن است به تفاوت در روش استخراج، ترکیبات فعال عصاره، یا تنوع ژنتیکی سویه‌های باکتریایی بستگی داشته باشد. تیموری و همکاران (۳۴) گزارش کردند که عصاره الکلی هلپه در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر هیچ اثر مهاری بر اشیریشیاکلی نداشته است، که با نتایج این مطالعه مغایرت دارد. این عدم همخوانی می‌تواند به تفاوت در روش‌های آزمایش، مانند استفاده از تکنیک انتشار دیسک در مقابل رقت لوله‌ای، یا مقاومت ذاتی سویه‌های مورد استفاده مربوط باشد. در مطالعه دیگری، طباطبایی یزدی و همکاران با استفاده از دو روش پخش عصاره در سطح محیط کشت و انتشار در آگار، اثر ضد میکروبی عصاره هلپه را بررسی کردند و MIC و MBC را برای اشیریشیاکلی به ترتیب ۳۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و ۱۲۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر گزارش کردند. این مقادیر نشان‌دهنده اثربخشی بالاتر عصاره در مقایسه با یافته‌های این پژوهش است و می‌تواند به تفاوت در شرایط آزمایش، نوع حلال، یا سویه‌های باکتریایی بستگی داشته باشد. علاوه بر این، آن‌ها گزارش کردند که عصاره اتانولی هلپه بر باکتری‌های

گرم مثبت نظیر استرپتوکوکوس پیوژنز، استافیلوکوکوس اپیدرمیس و استافیلوکوکوس اورئوس نیز اثر بازدارندگی دارد (۳۵)، که نشان‌دهنده طیف اثر گسترده‌تر این عصاره در مقایسه با تمرکز این مطالعه بر اشیریشیاکلی است. یافته‌های این پژوهش نشان‌دهنده پتانسیل عصاره هیدروالکلی گیاه هلپه به عنوان یک عامل ضدباکتریایی مکمل است. ترکیبات فعال زیستی موجود در این عصاره می‌توانند از طریق مکانیسم‌های متعدد، مانند نفوذ به غشای سلولی، مهار سنتز پروتئین، یا اختلال در متابولیسم سلولی، رشد اشیریشیاکلی را محدود کنند (۳۱). با این حال، اثربخشی آن به عوامل متعددی از جمله گونه باکتری، غلظت عصاره، روش تهیه و شرایط آزمایش وابسته است. به عنوان مثال، سویه استاندارد به دلیل عدم مواجهه با فشارهای انتخابی محیط‌های بالینی، حساسیت بیشتری نسبت به عصاره نشان داد، در حالی که جدایه‌های بالینی به دلیل تکامل مکانیسم‌های مقاومت، پاسخ ضعیف‌تری داشتند (۳۰). این تفاوت‌ها می‌توانند به پیچیدگی‌های ژنتیکی و فیزیولوژیکی باکتری‌ها اشاره داشته باشند که در شرایط واقعی عفونت، مانند حضور بیوفیلم‌ها یا تعامل با سیستم ایمنی میزبان، نقش مهمی ایفا می‌کنند. یکی از محدودیت‌های اصلی این مطالعه، تعداد کم نمونه‌ها بود که ممکن است بر توانایی تعمیم نتایج به جمعیت‌های بزرگ‌تر تأثیر گذاشته باشد. علاوه بر این، استفاده از روش‌های سنتی مانند انتشار دیسک و رقت لوله‌ای، اگرچه استاندارد هستند، ممکن است دقت کافی برای

نتیجه‌گیری

در این مطالعه مشخص شد که عصاره هیدروالکلی گیاه هلیه دارای اثر آنتی‌باکتریال قابل توجهی (MIC و MBC) بر سویه‌های استاندارد و بالینی اشريشياکلی، به ویژه سویه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌های رایج است. اگرچه قطر هاله عدم رشد عصاره در مقایسه با آنتی‌بیوتیک‌هایی مانند جنتامایسین و کوتریماکسازول کمتر بود، اما اثربخشی آنتی‌باکتریال این عصاره، آن را به عنوان یک عامل طبیعی مکمل بالقوه معرفی می‌کند. با توجه به چالش جهانی مقاومت آنتی‌بیوتیکی و افزایش سویه‌های مقاوم اشريشياکلی، گیاهان دارویی مانند؛ هلیه به دلیل دسترسی آسان، هزینه پایین و عوارض کمتر، گزینه‌ای امیدبخش هستند. این عصاره می‌تواند در درمان عفونت‌های ادراری شایع ناشی از اشريشياکلی با کاهش هزینه‌های درمانی و اثرات زیست محیطی، مؤثر باشد. برای کاربردی شدن این یافته‌ها، انجام آزمایش‌های سمیت سنجی روی مدل‌های سلولی و حیوانی و شناسایی ترکیبات فعال عصاره ضروری است. همچنین، ارزیابی اثرات عصاره بر سایر باکتری‌های مقاوم می‌تواند دامنه کاربرد آن را گسترش دهد. از این رو، گیاه هلیه پتانسیل بالایی به عنوان یک راهکار نوین و پایدار در برابر مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی دارد.

شناسایی تفاوت‌های ظریف در حساسیت باکتریایی را نداشته باشند. این محدودیت‌ها می‌توانند بر تفسیر نتایج اثر بگذارند و ضرورت استفاده از روش‌های پیشرفته‌تر را در پژوهش‌های آینده برجسته کنند. با این وجود، نتایج به دست آمده نشان‌دهنده ظرفیت بالقوه عصاره هلیه در کنترل رشد اشريشياکلی است که می‌تواند به عنوان پایه‌ای برای توسعه درمان‌های مکمل در برابر عفونت‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک مورد استفاده قرار گیرد (۳۳). این موضوع در شرایط کنونی که مقاومت دارویی به یک معضل جهانی تبدیل شده، از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است (۲۷). به طور کلی، این پژوهش بر ضرورت بررسی جامع‌تر اثرات ضد میکروبی عصاره‌های گیاهی تأکید دارد. پیشنهاد می‌شود پژوهش‌های آینده با افزایش حجم نمونه و استفاده از روش‌های مولکولی، مانند توالی‌یابی ژن‌های مقاومت یا آنالیز بیان ژن، مکانیسم‌های دقیق اثر این عصاره را روشن کنند. علاوه بر این، بررسی اثرات ترکیبی عصاره هلیه با آنتی‌بیوتیک‌های رایج می‌تواند به شناسایی هم‌افزایی‌های بالقوه منجر شود که در توسعه استراتژی‌های درمانی نوین مؤثر باشد. چنین رویکردهایی نه تنها به درک بهتر پتانسیل گیاهان دارویی کمک می‌کنند، بلکه می‌توانند راهکارهایی برای کاهش وابستگی به آنتی‌بیوتیک‌های شیمیایی ارائه دهند. در نهایت، این مطالعه گامی اولیه در جهت استفاده از منابع طبیعی برای مقابله با عفونت‌های باکتریایی است و می‌تواند به عنوان پایه‌ای برای تحقیقات گسترده‌تر عمل کند.

تقدیر و تشکر

پژوهشگران این مطالعه بر خود لازم دانستند از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی یاسوج و هم‌چنین از تمامی شرکت‌کنندگان در مطالعه نهایت قدردانی و تشکر به عمل آورند.

تضاد منافع

نویسندگان اعلام می‌دارند که هیچ‌گونه تعارض منافعی در خصوص این مقاله وجود ندارد.

ملاحظات اخلاقی

این مقاله برگرفته از پایان نامه دکترای پزشکی عمومی از دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی یاسوج، با کد اخلاق IR.YUMS.REC.1397.050 می باشد.

مشارکت نویسندگان

سید جواد هدایت: انجام پروژه، جمع‌آوری داده‌ها و بررسی‌ها، تفسیر نتایج، نگارش نسخه اولیه مقاله و تأیید نسخه نهایی مقاله. هادی ابراهیمی: انجام پروژه، تفسیر نتایج، نگارش نسخه اولیه مقاله و تأیید نسخه نهایی مقاله. اصغر شریفی: انجام پروژه، آنالیز پژوهش‌ها، تفسیر نتایج، نگارش نسخه اولیه مقاله و تأیید نسخه نهایی مقاله. اورنگ ایلامی: انجام پروژه، نگارش نسخه اولیه مقاله و تأیید نسخه نهایی مقاله. ذاکر سعیدی نژاد: تفسیر نتایج، نگارش نسخه اولیه

مقاله و تأیید نسخه نهایی مقاله. سید محمد خسروانی: انجام پروژه، تفسیر نتایج، نگارش نسخه اولیه مقاله و تأیید نسخه نهایی مقاله. سید عبدالمجید خسروانی: مدیریت و طراحی پروژه، انجام پروژه، تفسیر نتایج، نگارش نسخه اولیه مقاله و تأیید نسخه نهایی مقاله.

REFERENCES:

1. Heidari SE, Heidari M, Doosti A. Epidemiology of urinary tract infection and antibiotic resistance pattern of *E. coli* in patients referred to Imam Ali hospital in Farokhshahr, Chaharmahal va Bakhtiari, Iran. 2013.
2. Moumeni L, Zamanizadeh B. The antibacterial properties of *Allium cepa*(onion) and *Zingiber officinale*(ginger) extracts on *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* and *Candida albicans* isolated from vaginal specimens. 2010.
3. Kumavath R, Gupta P, Tatta ER, Mohan M, Salim SA, Busi S. Unraveling the role of mobile genetic elements (MGEs) in antibiotic resistance transmission and defending strategies in Bacteria. *Frontiers in Systems Biology* 2025; 5: 1557413.
4. Ye J, Sun Q, Wu Q, Xu J, Yang Y, Zhao R, Li Q. The expression regulation of *recA* gene and bacterial class 2 integron-associated genes induced by antibiotics. *Frontiers in Microbiology* 2025; 16: 1632813.
5. Tajeddin E, Alebouyeh M, Mohammad Alizadeh AH, Zali MR. Relationship between antibiotic resistance patterns and existence of class 1, 2 and 3 integrons in bacterial isolates from human bile samples in patients with biliary tract disorders. *Journal of Advances in Medical and Biomedical Research* 2014; 22(94): 72-82.
6. Dadi BR, Abebe T, Zhang L, Mihret A, Abebe W, Amogne W. Distribution of virulence genes and phylogenetics of uropathogenic *Escherichia coli* among urinary tract infection patients in Addis Ababa, Ethiopia. *BMC Infectious Diseases* 2020; 20(1): 108.
7. Dehbanipour R, Rastaghi S, Sedighi M, Maleki N, Faghri J. High prevalence of multidrug-resistance uropathogenic *Escherichia coli* strains, Isfahan, Iran. *Journal of Natural Science, Biology, and Medicine* 2016; 7(1): 22.
8. Mobasser P, Salehi M, Hosseini F. Study of class 1 integrons and antibiotic resistance in *Salmonella Typhimurium* strains isolated from livestock and poultry. *Microbial Biology* 2013; 2(7): 45-52.
9. Thapa RB, Shrestha S, Adhikari P, Shrestha R. Antibiotic resistance patterns in uropathogens: insights from a Nepalese tertiary care setting. *Therapeutic Advances in Infectious Disease* 2025; 12: 20499361251339383.
10. Sepahvand A, Kordbacheh P, Delfan B, Zaini F, Hashemi SJ, Mahmoodi M. Evaluating antifungal effects of *satureja khuzistanica* essence in Lorestan province by In vitro assays. *Scientific Magazine Yafte* 2005; 7(2): 37-43.
11. Tajadod Y, Fathabadi FF, Sadeghi Y, Piryaee A, Ayatollahi A, Dadpay M, Saremi S, Salimi M. The effects of hydro-alcoholic extracts of aerial components of *Teucrium polium* on pressure ulcer healing process and Tensile Strength in Wistar Rats. *Annals of Military and Health Sciences Research* 2013; 11(11): e64700.
12. Diff Rakhsh S, Barani H, Mazandarani M, Pour Rezaei J. Ethnopharmacology of the medicinal plant *Helpe* (*Teucrium polium*) in traditional medicine of the Tayyibi tribe of Kohgiluyeh and Boyer Ahmad provinces. Paper presented at: National Conference on Biodiversity Conservation and Indigenous Knowledge; 2010.
13. Aladedunye F, Matthäus B. Phenolic extracts from *Sorbus aucuparia* (L.) and *Malus baccata* (L.) berries: Antioxidant activity and performance in rapeseed oil during frying and storage. *Food Chemistry* 2014; 159: 273-81.
14. Aladedunye F, Przybylski R, Niehaus K, Bednarz H, Matthäus B. Phenolic extracts from *Crataegus mordenensis* and *Prunus virginiana*: Composition, antioxidant activity and performance in sunflower oil. *LWT-Food Science and Technology* 2014; 59(1): 308-19.
15. Isolation and identification of the indigenous lactic acid bacteria from Lighvan cheese. *Journal of Food Science and Technology(Iran)* 2012; 9(37): 9-22.
16. Porsolt RD, Bertin A, Jalfre M. Behavioral despair in mice: a primary screening test for antidepressants. *Archives Internationales de Pharmacodynamie et de Therapie* 1977; 229(2): 327-36.
17. Krumperman PH. Multiple antibiotic resistance indexing of *Escherichia coli* to identify high-risk sources of fecal contamination of foods. *Applied and Environmental Microbiology* 1983; 46(1): 165-70.

- 18.Aravind R, Kumar A, Eapen S, Ramana K. Endophytic bacterial flora in root and stem tissues of black pepper (*Piper nigrum* L.) genotype: isolation, identification and evaluation against *Phytophthora capsici*. *Letters in Applied Microbiology* 2009; 48(1): 58-64.
- 19.Levine M. The Correlation of the voges-proskauer and methyl-red reactions in the colonaerogenes group of bacteria. *The Journal of Infectious Diseases* 1916; 3: 358-67.
- 20.Farmer J, Fanning G, Davis B, O'hara C, Riddle C, Hickman-Brenner F, et al. *Escherichia fergusonii* and *Enterobacter taylorae*, two new species of Enterobacteriaceae isolated from clinical specimens. *Journal of Clinical Microbiology* 1985; 21(1): 77-81.
- 21.Thompson JS, Hodge DS, Borczyk AA. Rapid biochemical test to identify verocytotoxin-positive strains of *Escherichia coli* serotype O157. *Journal of Clinical Microbiology* 1990; 28(10): 2165-8.
- 22.Mohammadzadeh Moghaddam M, Elhamirad A, Shariatifar N, Saidee Asl M, Armin M. Anti-bacterial effects of essential oil of *Cardaria draba* against bacterial food borne pathogens. *Horizon Med Sci* 2014; 19: 9-16.
- 23.Rothenburger S, Spangler D, Bhende S, Burkley D. In vitro antimicrobial evaluation of Coated vicryl plus antibacterial suture(coated polyglactin 910 with triclosan) using zone of inhibition assays. *Surgical Infections* 2002; 3(S1): s79-s87.
- 24.Sadeghi R, Owlia P, Rezvani MB, Taleghani F, Sharif F. An in-vitro comparison between antimicrobial activity of nanosilver and chlorhexidine against *Streptococcus sanguis* and *Actinomyces viscosus*. *J Iran Dent Assoc* 2011; 23(4): 225-31.
- 25.Gattringer R, Nikš M, Ostertág R, Schwarz K, Medvedovic H, Graninger W, Georgopoulos A. Evaluation of MIDITECH automated colorimetric MIC reading for antimicrobial susceptibility testing. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2002; 49(4): 651-9.
- 26.Yalcin HT, Ozen MO, Gocmen B, Nalbantsoy A. Effect of ottoman viper(*Montivipera xanthina* (Gray, 1849)) venom on various cancer cells and on microorganisms. *Cytotechnology* 2014; 66: 87-94.
- 27.Trinchera M, Midiri A, Mancuso G, Lagrotteria MA, De Ani CA, Biondo C. A four-year study of antibiotic resistance, prevalence and biofilm-forming ability of uropathogens isolated from community- and hospital-acquired urinary tract infections in southern Italy. *Pathogens* 2025; 14(1): 59.
- 28.Mortazavi-Tabatabaei SA, Ghaderkhani J, Nazari A, Sayehmiri K, Sayehmiri F, Pakzad I. Pattern of antibacterial resistance in urinary tract infections: A systematic review and meta-analysis. *International Journal of Preventive Medicine* 2019; 10: 169.
- 29.Sharifi A, Khoramrooz S, Khosravani S, Yazdanpanah Yazdanpanah M, Gharibpour F, Malekhoseini Malekhoseini A, et al. Antimicrobial resistance pattern of *Escherichia coli* isolated from patients with urinary tract infection (UTI) in Yasuj city during 1391-1392. *Armaghane Danesh* 2014; 19(4): 337-46.
- 30.Molana Z, Shahandeh Z. Effect of garlic (*allium sativum*) and garlic extract on growth inhibition of *pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Babol University of Medical Sciences* 2003; 5(3): 57-62.
- 31.Mahmoud M, Anahita DA, Parisa N, Somayeh A, Farzaneh N. Phytochemical study of two plants, chicory and colepore, and evaluation of their antimicrobial and antifungal effects, 2002.
- 32.Poursagh, Mashgholdzhiker A, Limoui M. Study of the therapeutic effects of the herb *Teucrium polium* in candidal infection in women in Sepidan city in 2011. *Abstracts of the National Conference on Natural Products and Medicinal Plants*. 2013;1(1).
- 33.Mohseni R, Hosseini M, Ghaedi M, Sharifi A, Mohammadi Hr, Moridikia F,et al. Investigation of antibacterial effect and expression of alkaline protease gene in *pseudomonas aeruginosa* (pao1) using copper oxide, copper complex and satureja khuzistanica: rt-pcr method. *International Journal of Pharmaceutical Research* 2020; 12(4): 09752366.
- 34 Teimori M. Investigation of antimicrobial effect of extract of *Teucrium polium* L on some gram
- 35.Tabatabaei Tazul F, Alizadeh Behboudani D, Heidari Sureshjani M, Mortazavi SA. The in vitro study of antimicrobial effect of *teucrium polium* extract on infectious microorganisms. *Avicenna Journal of Clinical Medicine* 2014; 21(1): 16-24.

In Vitro Antibacterial Activity of *Teucrium Polium* L. Hydroalcoholic Extract Against Standard and Clinical Strains of *Escherichia Coli* Compared with Conventional Antibiotics

Hedayat SJ¹, Ebrahimi H¹, Sharifi A², Eilami O³, Saeedinejad Z⁴, Khosravani SM¹, Khosravani SA^{2*}

¹Student Research Committee, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran, ²Cellular and Molecular Research Center, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran, ³HIV/AIDS Research Center, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran, ⁴Department of Internal Medicine, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran

Received Date: 13 Apr 2025 Accepted Date: 13 Oct 2025

Abstract

Background & aim: Urinary tract infections (UTIs) are among the most prevalent infectious diseases, frequently caused by *Escherichia coli*. The escalating antibiotic resistance of this bacterium, driven by widespread antibiotic use and the transfer of resistance genes, has intensified therapeutic challenges. *Teucrium polium* L. rich in bioactive compounds such as monoterpenes and polyphenols, has been valued in traditional medicine. Therefore, the aim of this study was to determine and evaluate the antibacterial activity of the hydroalcoholic extract of *Teucrium polium* L. against standard and clinical strains of *Escherichia coli* in comparison with conventional antibiotics.

Methods: This is an experimental study in which the hydroalcoholic extract of *Teucrium polium* L. was prepared by the maceration method from plant samples collected in the city of Yasuj. The standard *E. coli* strain (ATCC 25922) and clinical isolates from UTI patients were tested. The susceptibility of the strains to antibiotics, including nitrofurantoin, gentamicin, cotrimoxazole, cefepime, ceftriaxone, and ciprofloxacin, was assessed using the disk diffusion method. The antibacterial activity of the extract was evaluated by determining the minimum inhibitory concentration (MIC), minimum bactericidal concentration (MBC) via the microdilution method, and the zone of inhibition (ZOI) diameter. The collected data were analyzed using the Kolmogorov-Smirnov test, one-way ANOVA, independent t-test, and repeated measures analysis of variance.

Results: Both standard and clinical *E. coli* strains were susceptible to the tested antibiotics. The MIC of the *T. polium* extract was 62.5 µg/mL for the standard strain and ranged from 31.25 to 62.5 µg/mL for clinical isolates. The MBC ranged from 125 to 250 µg/mL. No statistically significant differences were observed between the MIC and MBC of standard and clinical strains (p -value>0.05). The ZOI diameter was larger for the standard strain compared to clinical isolates, though this difference was not statistically significant (P -value>0.05). The *T. polium* extract exhibited considerable antibacterial activity, albeit less potent than some antibiotics.

Conclusions: The hydroalcoholic extract of *T. polium* demonstrates antibacterial potential against *E. coli* and could serve as a natural adjunct to address antibiotic resistance. Further studies are recommended to investigate its toxicity and identify active compounds. These findings underscore the significance of medicinal plants in developing novel therapeutic strategies.

Keywords: Urinary Tract Infections, *Teucrium polium*, *Escherichia coli*, Plant Extracts, Drug Resistance

***Corresponding author:** Khosravani SA, Cellular and Molecular Research Center, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran.

Email: khosravani2us@yahoo.com

Please cite this article as follows: Hedayat SJ, Ebrahimi H, Sharifi A, Eilami O, Saeedinejad Z, Khosravani SM, Khosravani SA. In Vitro Antibacterial Activity of *Teucrium Polium* L. Hydroalcoholic Extract Against Standard and Clinical Strains of *Escherichia Coli* Compared with Conventional Antibiotics. *Armaghane-danesh* 2026; 31(1): 34-49.

The scientific research journal *Armaghan Danesh*, affiliated with Yasuj University of Medical Sciences, is an open-access publication. All articles published in this journal