

اثر سیر بر کلونی‌های سالمونلاتایفی موریوم

حسین جعفری* دکتر محمد رضا جلالی** رضاه قره باغی***

The effect of garlic chloroformic extract (*Alium sativum*) on salmonella typhimurium colonies in rabbits

H. Jafari

M. R. Jallali Nadoshan

R. Gharebaghi

□ Abstract

Background: Salmonellosis is a common disease between animal and human. Food poisoning is mostly related to pathogen bacteria of the disease, ie salmonella typhimurium. Garlic has special anti- bacterial effects in herbal medicine.

Objective: To study the effect of garlic extract to reduce the colonies of salmonella typhimurium.

Methods: 78 female rabbits of Dutch- Polish type were divided into 13 groups of 6. 12 groups were infected by 3 concentrations of salmonella typhimurium (no:1186). 9 groups were orally treated by different concentrations of garlic extract. Rectal sampling were performed from all animals every day (Starting one day before infection & lasting for 7 days). The results were recorded.

Findings: Treating the infected rabbits with different garlic dosages was successful & 40 mg/ kg dosage was considerably effective ($P < 0.001$).

Conclusion : Garlic chloroformic extract in correct dosage is effective on S.T.

Keywords : Colony Count, Salmonella Typhimurium, Garlic Chloroformic Extract, Rabbit

□ چکیده

زمینه : سیر در بین گیاهان دارویی دارای اثر ضد باکتریایی ویژه‌ای است.

هدف : مطالعه به منظور تعیین اثر عصاره کلروفرمی سیر بر کاهش کلونی‌های سالمونلاتایفی موریوم انجام شد.

مواد و روش‌ها : تعداد ۷۸ خرگوش نر سفید آزمایشگاهی از نژاد داج پولیش در ۱۳ گروه شش‌تایی انتخاب شدند. ۱۲ گروه شش‌تایی توسط غلظت‌های سه‌گانه‌ای از باکتری سالمونلاتایفی موریوم به شماره سوش ۱۱۸۶ آلوده شدند. ۹ گروه از حیوانات آلوده با غلظت‌های مختلف عصاره سیر از راه دهان تحت درمان قرار گرفتند. نمونه‌گیری از مدفوع حیوان‌های آلوده و همچنین گروه‌های آلوده تحت درمان، ۲۴ ساعت قبل از آلوده شدن و تا شش روز بعد از آلوده شدن هر ۲۴ ساعت انجام و نتایج در جداول ویژه ثبت شد.

یافته‌ها : درمان خرگوش‌های آلوده ۹۶ ساعت پس از آلودگی، با دوزهای مختلف سیر موفقیت آمیز بود. دوز ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از عصاره سیر اثر بسیار چشم‌گیری داشت ($P < 0.001$).

نتیجه‌گیری : عصاره کلروفرمی سیر با دوز مناسب در درمان سالمونلوزیس (حصیه) مؤثر است.

کلیدواژه‌ها : کلونی، سالمونلاتایفی موریوم، عصاره کلروفرمی سیر، خرگوش، حصیه

* مربی و عضو هیأت علمی گروه فارماکولوژی دانشگاه علوم پزشکی قزوین

** استادیار گروه پاتولوژی دانشگاه شاهد

*** دانشجوی پزشکی

□ مقدمه:

حصبه (سالمونلوزیس) یکی از مهم‌ترین بیماری‌های مشترک بین انسان و دام است که به وسیله باکتری‌های جنس سالمونلا ایجاد می‌شود. در بین سالمونلاها، سالمونلا تایفی موریوم از جایگاه خاصی برخوردار است.^(۷) از نظر اپیدمیولوژی سالمونلاتایفی موریوم گسترش جهانی دارد. این باکتری عامل اصلی مسمومیت غذایی در انسان است و برای مدت ۷ تا ۹ ماه در خاک، آب و مدفوع زنده می‌ماند و نسبت به انجماد بسیار مقاوم است.^(۱۲) این باکتری بیشتر از راه دهان وارد بدن می‌شود. سالمونلوز ناشی از سالمونلاتایفی موریوم به طور معمول با عفونت روده‌ای آغاز می‌شود و متعاقب آن ممکن است ارگاناسم وارد جریان خون شود و بیماری به شکل عمومی درآید که در این حالت ممکن است سپتی سمی، مننژیت آرتریت، پنومونی یا سقط دیده شود.^(۵)

کلرامفنیکل داروی مؤثری جهت درمان سالمونلوزیس محسوب می‌شود، ولی طیف آنمی آپلاستیک بسیار وسیع و عوارض جانبی آن، مصرف این دارو را محدود کرده است. از سوی دیگر مصرف داروهای ضد میکروبی در سالمونلوزیس با عود زیادی همراه است که احتمالاً این مسأله ناشی از مهار پاسخ ایمنی در بیمار است. ریشه‌کنی مرحله ناقلی مزمن به خصوص اگر سنگ صفراوی هم موجود باشد، بسیار مشکل است. این در حالی است که بیش از ۲۵ درصد سالمونلاها به آمپی‌سیلین مقاومند و این نسبت در حال گسترش است.^(۸،۹) از سوی دیگر استفاده از سیر در طب سنتی توصیه شده است و براساس پژوهش‌های انجام شده، سیر اثرات درمانی گوناگونی

دارد که عبارت‌اند از: اثر ضد میکروبی و ضد قارچی، کاهش قند خون، کاهش چربی خون، کاهش فشار خون، تسریع التیام زخم‌ها، درمان سرماخوردگی، درمان آسم، استحکام مینای دندان‌ها، تسریع عمل هضم و تحریک اشتها. این گیاه قرن‌هاست که مورد استفاده درمانی قرار می‌گیرد.^(۹)

با توجه به مواردی چون عوارض جانبی آنتی‌بیوتیک‌ها، گران بودن داروهای مصرفی، مقاومت میکروبی توسط این داروها و توجه به طب سنتی و سودآوری اقتصادی برای کشور، این مطالعه به منظور تعیین اثر عصاره کلروفرمی سیر در درمان سالمونلوزیس ناشی از سالمونلاتایفی موریوم انجام شد.

□ مواد و روش‌ها:

پس از انجام مطالعات نظری و جمع‌آوری اطلاعات اولیه در زمینه خواص سیر، مطالعه پایلوت انجام شد. سیر تازه همدان پس از خرد، خشک و آسیاب کردن به شکل پودر نرمی درآورده شد. سپس ۳۰ گرم از پودر سیر در دستگاه سوکسله با ۵۰ سی سی کلروفرم مخلوط و عمل عصاره‌گیری کلروفرمی از سیر انجام شد. عصاره به دست آمده توسط دستگاه تقطیر در خلاء غلیظ شد. سپس از عصاره به دست آمده غلظتی معادل ۲۰ گرم بر لیتر در آب مقطر تهیه گردید. در مرحله بعدی باکتری سالمونلاتایفی موریوم با شماره سوش ۱۱۸۶ از سازمان پژوهش‌های علمی صنعتی ایران تهیه شد. پس از کشت باکتری در محیط Brain Heart agar و غنی شدن به محیط‌های افتراقی

درمان داده شد. سپس ۳ گروه بعدی به ترتیب فوق با سوش 10^{10} و سه گروه دیگر با سوش 10^{11} کلنی بر میلی‌لیتر آلوده شدند و مشابه اولین گروه آلوده عصاره سیر با غلظت‌های بالا برای آنها تجویز شد. به گروه سیزدهم به جای عصاره سیر غذا داده شد و این گروه با گروه‌های آلوده به سوش مقایسه شدند. پس از تجویز سوسپانسیون میکروبی و عصاره سیر به صورت خوراکی، از مقعد گروه‌های مختلف نمونه‌گیری به عمل می‌آمد و نمونه‌ها بر روی محیط کشت *XLD* به صورت یکنواخت پخش و سپس به گرمخانه با دمای $37/5$ درجه سانتی‌گراد منتقل می‌شدند. پس از ۲۴ ساعت و تا ۶ روز تعداد کلنی‌ها با توجه به رقت آنها شمارش می‌شد. سپس یافته‌ها کدبندی و با استفاده از نرم‌افزار *Spss* و آزمون‌های آماری *t* و واریانس با اندازه‌گیری مکرر تجزیه و تحلیل شدند.

□ یافته‌ها :

ابتدا سیر تأثیری در کاهش کلنی‌ها نداشت، ولی پس از گذشت ۹۶ ساعت غلظت ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم آن به طور چشم‌گیری آلودگی را کاهش داد. دوز 10^9 میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره کلروفرمی سیر در کاهش کلنی‌ها تأثیر کمتری داشت، ولی دوز 40^9 میلی‌گرم بر کیلوگرم دارای اثر بخشی بیشتری بود ($P < 0/01$) (جدول‌های شماره ۱ و ۲ و ۳).

در درمان گروه‌های آلوده با غلظت 10^9 با کتری در هر سی‌سی از محیط کشت، دوز 20^9 میلی‌گرم بر کیلوگرم نسبت به دوزهای 10^9 و 40^9 میلی‌گرم بر کیلوگرم در زمان‌های ۹۶ و ۱۴۴ ساعت مؤثرتر بود (جدول شماره ۳). نتایج نشان داد که درمان با سیر با

شیگلا- سالمونلا (*SS*) و سلنیت *F* (*SF*) برده شد و سروتایپ آن توسط آزمون‌های سرولوژیک مشخص گردید. برای تأیید کامل نوع باکتری از محیط سولفید آگار که سالمونلاتایفی موریوم بر روی آن کلونی‌های نقره‌ای درخشان تولید می‌کند، استفاده شد. پس از تعیین هویت باکتری، غلظت‌های 10^9 ، 10^{10} و 10^{11} طبق روش مک‌فارلند در هر میلی‌لیتر از محیط کشت تهیه شد. (۱۱) حیوانات آزمایشگاهی مورد استفاده در این پژوهش خرگوش‌های سفید آزمایشگاهی به تعداد ۷۸ عدد و از نژاد داج پولیش از جنس نر و با میانگین وزنی ۲ کیلوگرم بودند که از انستیتو تحقیقاتی رازی تهیه شدند. سالم بودن خرگوش‌ها قبل از آزمایش‌ها به اثبات رسید. بدین صورت که پس از نمونه‌برداری از مقعد حیوان به وسیله سواب‌های مخصوص، نمونه بر روی محیط *SF* و *SS* و محیط غنی‌کننده *Xylose-Lysine Deoxycholate agar* (*XLD*) منتقل گردید. در صورتی که در محیط *XLD* کلنی صورتی رنگ به وجود می‌آمد، تشخیص باکتری لاکتوز منفی و پاتوژن قطعی می‌شد. (۱) تمام خرگوش‌ها سالم بودند و تنها باکتری که در مدفوع آنها مشاهده شد فلور طبیعی روده بود. از غلظت 20^9 گرم در لیتر عصاره سیر که قبلاً تهیه شده بود به ترتیب غلظت‌های 40^9 ، 20^9 و 10^9 میلی‌گرم بر کیلوگرم به مدت یک هفته هر ۸ ساعت یک بار برای گروه‌های مطالعاتی تجویز شد. حیوان‌ها در ۱۳ گروه ۶ تایی گروه‌بندی شدند، ابتدا چهار گروه ۶ تایی با سوش 10^9 کلنی در میلی‌لیتر آلوده شدند و به ۳ گروه ۶ تایی از این گروه‌ها عصاره سیر با غلظت 10^9 ، 20^9 و 40^9 میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت خوراکی داده شد، به گروه چهارم مقداری غذا بدون

دوز ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم حدود دو برابر نسبت به سیزدهم تعداد کلونی‌ها به طور میانگین در ساعات دوزهای دیگر در کاهش کلنی‌ها موثرتر بود. در گروه کنترل ثابت بود.

جدول ۱:

میانگین تعداد کلنی‌های سالمونلا در مدفوع حیوانات آلوده با سوش 10^{11} در میلی‌لیتر و تحت درمان با دوزهای مختلف

عصاره سیر ($n=6$)

زمان (ساعت)	-۲۴	۰	۲۴	۴۸	۷۲	۹۶	۱۴۴
عصاره mg/kg							
بدون درمان	۰	۰	$5/5 \times 10^8$	$2/1 \times 10^{10}$	$7/4 \times 10^8$	$1/2 \times 10^{10}$	$1/5 \times 10^{10}$
۱۰	$2/29 \times 10^9$	$2/27 \times 10^{10}$	$4/7 \times 10^{10}$	$1/48 \times 10^9$	$3/10 \times 10^9$	$2/34 \times 10^9$	$1/86 \times 10^9$
۲۰	$2/7 \times 10^9$	$4/7 \times 10^9$	$5/2 \times 10^9$	$1/4 \times 10^9$	$1/9 \times 10^9$	$1/3 \times 10^8$	$9/8 \times 10^6$
۴۰	$8/4 \times 10^9$	$1/04 \times 10^{10}$	$9/4 \times 10^9$	$1/6 \times 10^9$	$2/06 \times 10^3$	$6/7 \times 10^4$	$1/27 \times 10^6$

جدول ۲:

میانگین تعداد کلنی‌های سالمونلا در مدفوع حیوانات آلوده با سوش 10^{10} در میلی‌لیتر و تحت درمان با دوزهای مختلف

عصاره سیر ($n=6$)

زمان (ساعت)	-۲۴	۰	۲۴	۴۸	۷۲	۹۶	۱۴۴
عصاره mg/kg							
بدون درمان	۰	۰	$1/13 \times 10^8$	$1/41 \times 10^8$	$2/3 \times 10^8$	$1/4 \times 10^8$	$1/58 \times 10^8$
۱۰	$8/2 \times 10^7$	$5/7 \times 10^7$	$5/3 \times 10^7$	$4/06 \times 10^7$	$2/63 \times 10^7$	$2/6 \times 10^7$	$5/6 \times 10^6$
۲۰	$7/9 \times 10^7$	$9/9 \times 10^7$	$8/4 \times 10^7$	$1/87 \times 10^7$	$3/1 \times 10^7$	$2/6 \times 10^7$	$1/27 \times 10^7$
۴۰	$5/93 \times 10^7$	$5/98 \times 10^7$	$4/7 \times 10^7$	$7/3 \times 10^6$	$1/6 \times 10^7$	$6/4 \times 10^5$	$4/6 \times 10^5$

جدول ۳:

میانگین تعداد کلنی‌های سالمونلا در مدفوع حیوانات آلوده با سوش 10^9 در میلی‌لیتر تحت درمان با دوزهای مختلف

عصاره سیر ($n=6$)

زمان (ساعت)	-۲۴	۰	۲۴	۴۸	۷۲	۹۶	۱۴۴
عصاره mg/kg							
بدون درمان	۰	۰	$1/85 \times 10^2$	$5/150 \times 10^3$	$6/0133 \times 10^4$	$2/3775 \times 10^6$	$3/3406 \times 10^6$
۱۰	$6/10 \times 10^6$	$5/73 \times 10^6$	$6/14 \times 10^6$	$5/31 \times 10^6$	$1/76 \times 10^6$	$6/88 \times 10^5$	$3/68 \times 10^5$
۲۰	$2/97 \times 10^6$	$3/35 \times 10^6$	$3/53 \times 10^7$	$5/73 \times 10^5$	$9/91 \times 10^5$	$1/63 \times 10^5$	$1/03 \times 10^5$
۴۰	$2/54 \times 10^7$	$2/88 \times 10^7$	$1/93 \times 10^7$	$1/68 \times 10^7$	$2/01 \times 10^7$	$2/59 \times 10^4$	$1/14 \times 10^4$

▣ بحث و نتیجه‌گیری :

بر اساس نتایج این پژوهش ابتدا سیر تأثیری بر کاهش کلنی‌ها نداشت، ولی پس از گذشت ۹۶ ساعت به طور چشم‌گیری آلودگی را کاهش داد. در ساعات قبل از ۹۶، تعداد کلنی‌ها به آهستگی کاهش یافت و سپس روند صعودی و در نهایت کاهش سریع پیدا کرد. کاهش کلنی‌ها طی دو مرحله انجام شد، مرحله اول کاهش جزئی و مرحله دوم کاهش سریع را نشان داد. دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره سیر در کاهش کلنی‌ها به مقدار کمتری مؤثر بود، ولی دوز ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم اثربخشی بیشتری داشت. نتایج این بررسی با نتایج مطالعه جاودهات و همکاران بر روی خرگوش‌های آلوده به شیگلا نزدیک است.^(۱) شارما و همکاران دوزهای پایین‌تر عصاره سیر را در درمان سالمونلوزیس و شیگلوزیس به کار بردند، ولی نتایج مطلوبی به دست نیاوردند. آنها با دوز بالاتر عصاره سیر نتایج قابل قبولی را به دست آوردند.^(۱۰) به نظر می‌رسد تکثیر میکروب در بدن خرگوش سرعت درمان را کاهش می‌دهد و سیر نمی‌تواند در روزهای اول مؤثر باشد، ولی در روزهای بعدی در اثر مصرف مکرر سیر به خصوص با دوزهای بالا کاهش معنی‌داری در کلنی‌ها مشاهده می‌شود که بسیار قابل تأمل است.

▣ سپاسگزاری :

از همکاری آقایان دکتر نادر فلاح، دکتر محمد نیاکان و دکتر سیدرضا مرتضوی تشکر می‌شود.

▣ مراجع :

1. *clinical microbiology*, 3rd ed, Washington , American Souiety of Microbiology.1994
2. Focke M et al. Allicine, a naturally occurring antibiotic from garlic specially inhibits actyl CoA synthetase. *FEBS Lett* 1990 Feb 12; 261(1): 106-8
3. Galan JE et al. Involvement of EGFR in the invasion of cultured mammalian cells by salmonella typhimurium. *Nature* 1992; 357: 588-9
4. Gyles CL et al. Pathogenesis of bacterial infections in animals. Iowa state university press, 1988, 95-109
5. Jawetz E. *Medical microbiology*. 8th ed, California Appleton and Lange, 1996, 218-21
6. Joklik WK et al. *Zinsser microbiology*. 20th ed, Prentic Hall International, 1993, 337-400
7. Ornston L Na. *Medical microbiology*. 19 th ed, California, Appleton and Lange, 1991, 11-3, 218, 221
8. Schaechieter M et al. *Mechaniams of microbial disease*. Williams and Wilkins, 1989, 266-75
9. Sharma VD, Sethi MS et al. Antibacterial property of allium sativum invitro and invivo studies. *Indian J Exp Biol* 1977; 15: 466-8
10. Singraham JL, Ingraham CA. *Text book of introduction to microbiology*. London, Wadsworth publishing Co., 1995, 147-99
11. Varnam AM, Evans MG. *Food borne pathogens*. London, W.B. Saunders 1997, 15,33, 51-5, 46-7

1. Chowdhurt AK et al. Efficacy of aqueous extract of garlic and allicin in experimental shigellosis in rabbits. *Indian J Med Res* 1991 Jan; 93: 33-6
2. Edwin H, Earle H, Joseph P. *Manual of*