



ارزیابی حداقل غلظت مهارکنندگی و کشندگی عصاره‌های پنیرک (*Malva sylvestris*) و بر همکنش آن‌ها بر تعدادی از باکتری‌های بیماری‌زا در شرایط آزمایشگاهی

خدیجه شیرانی بیدابادی^{*۱}

۱-دانشجوی دکتری علوم و صنایع غذایی گرایش میکروبیولوژی مواد غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال

اطلاعات مقاله

چکیده

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۹۹/۰۶/۱۴

تاریخ پذیرش: ۹۹/۰۸/۱۴

کلمات کلیدی:

پنیرک، عصاره،

بازدارنده افتراقی،

اثر ضد میکروبی.

DOI: 10.52547/fsct.18.03.07

* مسئول مکاتبات:

Khadijeh.shirani@hotmail.com

گیاه پنیرک با نام علمی *Malva sylvestris* متعلق به خانواده پنیرکیان است. ترکیبات مؤثر و فعال موجود در گیاه پنیرک می‌تواند دلیلی برای فعالیت زیستی گیاه و در نهایت کاربردهای درمانی باشد. هدف از این پژوهش ارزیابی اثر ضد میکروبی گیاه پنیرک بر تعدادی از باکتری‌های عامل بیماری‌های عفونی بود. عصاره‌گیری از گیاه با روش خیساندن (ماسراسیون) انجام شد. برای سنجش کیفی اثر ضد میکروبی گیاه پنیرک از دو روش دیسک دیفیوژن و تمام ظرف استفاده گردید. برای ارزیابی کمی فعالیت ضد میکروبی نیز از روش میکروداپلوشن براث و روش بازدارنده افتراقی (برهمکنش) استفاده شد. حداقل غلظت کشندگی نیز به روش پورپلیت تعیین گردید. نتایج نشان داد، غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره اتانولی بر باکتری‌های استرپتوکوکوس پیوژنز و استافیلوکوکوس اورئوس بیشترین اثر را داشت، به طوری که اختلاف معنی‌داری با تمامی تیمارهای دیگر از خود نشان داد. انتروباکتر اثر وژینوزا بیشترین مقاومت به عصاره‌های آبی و اتانولی گیاه پنیرک داشت. حداقل غلظت بازدارندگی عصاره اتانولی برای باکتری‌های استرپتوکوکوس پیوژنز، استافیلوکوکوس اورئوس، اشرشیا کلی و انتروباکتر اثر وژینوزا به ترتیب ۸، ۸، ۶۴ و ۶۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. در حالی که برای عصاره آبی به ترتیب ۱۶، ۳۲، ۱۲۸ و ۱۲۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. در نهایت می‌توان گفت عصاره اتانولی گیاه پنیرک در مقایسه با عصاره آبی اثر بازدارندگی بیشتری بر سوبه‌های بیماری‌زا داشت. همچنین نتایج نشان داد، عصاره‌های آبی و اتانولی گیاه پنیرک بر باکتری‌های گرم مثبت نسبت به باکتری‌های گرم منفی اثر ضد میکروبی بیشتری نشان دادند.

۱- مقدمه

اسناد و کتب به دست آمده مرتبط با تاریخچه علم پزشکی، به ویژه در مناطق و کشورهای با تمدن دیرینه حاوی اطلاعات و تجربیات بسیار زیادی در زمینه استفاده و درمان بیماری‌های به وسیله گیاهان دارویی هستند. با توجه به قدمت طولانی ایران و پیشینه درخشان در طب سنتی، اطلاعات بسیار ارزشمندی در زمینه به کارگیری داروهای گیاهی وجود دارد. امروزه با توجه به پیشرفت و توسعه علوم مختلف شاهد تولید و استفاده از اشکال نوین و جدید داروها از منابع شیمیایی هستیم، اما تا چندین دهه قبل استفاده از شربت‌ها و ضمادها تهیه شده از گیاهان دارویی بسیار مورد تجویز و توجه قرار داشت. اگرچه سال‌های زیادی از آنچه که ذکر شد، می‌گذرد، اما جمع‌بندی اطلاعات جهانی و توصیه‌های سازمان جهانی بهداشت بیانگر این واقعیت است که داروهای قدیمی با منشأ گیاهی همچنان می‌توانند کارایی لازم در پیشگیری و درمان را دارا بوده و تمایل مصرف‌کنندگان نیز با توجه به عوارض جانبی کم‌تر به آن‌ها معطوف است [۱-۴]. با توجه به تنوع کاربرد گیاه پنیرک در طب سنتی، استفاده از این گیاه بسیار برجسته و قابل توجه می‌باشد، به طوری که مصرف این گیاه به سه هزار سال پیش از میلاد باز می‌گردد. مطالعات باستان‌شناسی در سوریه نشان‌دهنده کاربرد طولانی مدت از گیاه پنیرک می‌باشد، به نحوی که با توجه به اثبات بذر گیاه پنیرک در دندان فسیل انسان‌ها، استفاده غذایی و دارویی از گیاه مذکور مورد تأیید می‌باشد [۵ و ۶]. گیاه پنیرک با اسم علمی (*Malva sylvestris*) از تیره ی مالواسه می‌باشد. از نظر گیاه‌شناسی این گیاه پایه، خوابیده با برگ‌های شبیه به قلب، گل‌های سفید با رگه‌های قرمز می‌باشد. طبق تحقیقات انجام گرفته وجود ویتامین، تانن، موسیلاژ یا مواد لعابی، قند، آگزالات کلسیم، مواد رزینی و پکتین در گیاه تأیید می‌شود [۷ و ۸]. گیاه پنیرک با نام‌های مختلفی همانند نان کلاغ، خبازی و توله در نقاط مختلف ایران نامیده می‌شود. در طب سنتی از این گیاه در کاهش عوارض سرماخوردگی، التهابات تنفسی و جوش‌های پوستی استفاده می‌گردد [۶].

میکروارگانیزم‌های بیماری‌زا نقش بسیار مهمی در ایجاد بیماری‌ها ایجاد می‌کنند. مرگ و میر ناشی از باکتری‌های بیماری‌زا

و هزینه‌های اقتصادی بالا، باعث توجه بشر به راه‌های مقابله با آن‌ها شده است. با افزایش سویه‌های میکروبی مقاوم نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها تحقیقات جهت کاهش مضرات میکروارگانیزم‌ها ادامه دارد [۹]. باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* جز باکتری‌های بیماری‌زا می‌باشد و مسمومیت ناشی از آن یکی از شایع‌ترین مسمومیت‌های غذایی است و در اغلب کشورها از نظر وقوع جز سه مسمومیت درجه اول قرار دارد. *استافیلوکوکوس اورئوس*، طیف وسیعی از عفونت‌ها از جمله عفونت‌های ساده پوستی (جوشدانه، گل مژه و آبسه) تا عفونت‌های کشنده (پنومونی، مننژیت، سندرم شوک سمی و سپتی سمی) را ایجاد می‌کند. یکی از عوامل اصلی عفونت‌های بیمارستانی به ویژه عفونت‌های زخم پس از جراحی به وسیله *استافیلوکوکوس اورئوس* ایجاد می‌شود [۸ و ۱۰]. *استرپتوکوکوس پیوژنز* باکتری کوکسی و گرم مثبت می‌باشد. باکتری *استرپتوکوکوس پیوژنز* به طور میانگین در هر سال باعث ایجاد ۷۰۰ میلیون عفونت می‌شود که ۶۵۰ هزار مورد از آن‌ها شدید می‌باشند. میزان مرگ و میر عفونت‌های ایجاد شده توسط *استرپتوکوکوس پیوژنز* حدود ۲۵ درصد است. این باکتری بیماری‌های مهمی از جمله فارنژیت (گلودرد چرکی)، زرد زخم، باد سرخ، فاسیت نکروزان (قانقاریا) ایجاد می‌نماید [۱۱]. *انتروباکتر ائروژینوزا* و *اشرشیا کلی* از باکتری‌های گرم منفی می‌باشند که باعث بیماری‌های گوارشی می‌گردند. این باکتری‌ها از خانواده *انتروباکتریاسه* می‌باشند و باعث به وجود آمدن بیماری‌های عفونی می‌گردند [۱۲ و ۱۳]. هدف از این پژوهش بررسی اثر مهارکنندگی و کشندگی عصاره‌های آبی و اتانولی گیاه پنیرک بر باکترهای *استافیلوکوکوس اورئوس*، *استرپتوکوکوس پیوژنز*، *اشرشیا کلی* و *انتروباکتر ائروژینوزا* با استفاده از روش‌های دیسک دیفیوژن، تمام ظرف (پورپلیت)، میکرودایلوشن برات (حداقل غلظت مهارکنندگی)، حداقل غلظت کشندگی و بازدارنده افتراقی (برهمکنش) در شرایط آزمایشگاهی بود.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد شیمیایی و محیط‌های کشت میکروبی

مواد شیمیایی مصرفی در این پژوهش شامل حلال‌های آب، اتانول ۹۶ درصد، اسید سولفوریک، کلروباریم، مولر هیتون

۲-۵- احیا سویه‌های میکروبی و تهیه استاندارد

میکروبی

سویه‌های میکروبی که به صورت لیوفیلیزه بودند براساس روش‌های استاندارد احیا شدند. جهت آزمون‌های ضد میکروبی از باکتری‌های تازه و جوان، تعدادی کلنی (در شرایط استریل) برداشته و به محیط کشت مولر هیتون براث منتقل گردید. سپس کدورت حاصل توسط اسپکتروفتومتر تا برابر شدن با کدورت محلول استاندارد (نیم مک فارلند) در طول موج ۶۲۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. در این حالت تعداد سویه‌های میکروبی برابر با $10^8 \times 1/5$ CFU/ml بود [۱۴ و ۱۵].

۲-۶- بازده استخراج عصاره‌های آبی و اتانولی

گیاه پنیرک

تعیین بازده عصاره‌های آبی و اتانولی پنیرک به روش ستاری و همکاران انجام گرفت. اصول کلی این روش به طور خلاصه شامل، توزین عصاره قبل و بعد از خشک شدن در دمای اتاق بود. این آزمون سه بار تکرار شد و میانگین به عنوان وزن خشک یا بازده استخراج عصاره‌های آبی و اتانولی پنیرک در نظر گرفته شد [۱۶].

۲-۷- ارزیابی فعالیت ضد میکروبی عصاره‌های

پنیرک به روش تمام ظرف

یکی از روش‌های ارزیابی ضد میکروبی عصاره‌های گیاهان روش تمام ظرف (پور پلیت) می‌باشد. روش تمام ظرف یک روش کیفی می‌باشد و نتایج حاصل به صورت حساس، نیمه حساس و مقاوم گزارش می‌گردد. در روش تمام ظرف ۰/۲ گرم از عصاره‌های پنیرک به لوله آزمایش استریل ۱۰ سی سی اضافه و به آن ۵ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه گردید و عمل همزدن تا حل شدن کامل عصاره‌ها انجام گردید. از این محلول عصاره میزان یک میلی‌لیتر به پتری‌های کشت میکروبی (استریل) اضافه شد. از کشت استاندارد هر سویه میکروبی بر محیط کشت مولر هیتون آگار کشت داده و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری انجام شد [۱۷].

براث و مولر هیتون آگار همگی از شرکت مرک آلمان تهیه شدند.

۲-۲- سویه‌های میکروبی

در این پژوهش از ۴ سویه میکروبی استاندارد که شامل دو سویه گرم مثبت (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923) و دو سویه گرم منفی (*Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 و *Escherichia coli* ATCC 25922) جهت ارزیابی اثر ضد باکتریایی عصاره‌های آبی و اتانولی گیاه پنیرک استفاده گردید.

۲-۳- جمع‌آوری گیاه پنیرک (توله) و تعیین

جنس و گونه

گیاه پنیرک یا توله از استان خوزستان (ایران) جمع‌آوری و پس از شناسایی توسط گیاه‌شناسان جنس و گونه گیاه نیز تأیید گردید. گیاه پنیرک به آزمایشگاه انتقال یافت و پس از تمیز شدن، در سایه خشک گردید.

۲-۴- عصاره‌های آبی و اتانولی گیاه پنیرک

جهت انجام عمل عصاره‌گیری از روش خیساندن گیاه در حلال (ماسراسیون) استفاده شد. اصول کلی این روش به اختصار به این صورت می‌باشد که مقدار ۲۵ گرم از گیاه پودر شده را به ارلن ۵۰۰ سی سی منتقل کرده و به صورت جداگانه حلال‌های آب و اتانول ۹۶ درصد به میزان ۲۲۵ سی سی به آن‌ها اضافه گردید. پس از مدت زمان ۴۸ ساعت نگهداری مخلوط گیاه و حلال بر دستگاه چرخان (شیکردار)، توسط گاز استریل ۴ لایه‌ای و قیف عصاره‌های آبی و اتانولی از باقی مانده گیاه جدا گردید و جهت شفاف‌سازی و یکنواختی بیشتر عصاره‌ها توسط سانتریفوژ به مدت ۲۰ دقیقه عمل سانتریفوژ انجام شد. عمل تغلیظ عصاره و حذف حلال‌ها به وسیله دستگاه روتاری انجام شد. عصاره‌های آبی و اتانولی گیاه پنیرک تا انجام آزمون ضد میکروبی در شیشه استریل که توسط فویل آلومینیومی پوشانیده شده بود در دمای یخچال نگهداری شد [۱۴].

۲-۸- ارزیابی فعالیت ضد میکروبی عصاره‌های

پنیرک به روش دیسک دیفیوژن

در روش دیسک دیفیوژن یا انتشار در آگار به کمک دیسک پس از تلقیح سویه‌های میکروبی (کشت سطحی) بر روی محیط کشت مولر هیتون آگار، دیسک‌های آماده بلانک به قطر ۶ میلی‌متر به فاصله ۲۵ میلی‌متر از یکدیگر و از لبه طرف، به وسیله پنس استریل قرار داده شد. از غلظت‌های ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره‌های آبی و اتانولی پنیرک (قبل از افزودن عصاره‌ها به دیسک توسط فیلتر میکروبی عمل استریل کردن انجام گردید) به دیسک‌ها افزوده شد. پلیت‌ها به مدت ۳۰ دقیقه برای عمل پیش انتشار درون یخچال (دمای ۴ درجه سانتی‌گراد) قرار گرفتند. بعد از گذشت زمان مذکور، پلیت‌های در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت به انکوباتور منقل شدند. بعد از ۲۴ ساعت قطر هاله‌های عدم رشد اطراف دیسک توسط کولیس اندازه‌گیری و میانگین ۳ بار تکرار ثبت شد. به منظور مقایسه و کنترل آزمون دیسک از آنتی‌بیوتیک‌های تتراسایکلین و ونکومایسین (پادتن طب) به عنوان کنترل مثبت استفاده شد [۱۷ و ۱۸].

۲-۹- ارزیابی حداقل غلظت مهارکنندگی

عصاره‌های پنیرک به روش ریز رقیق‌سازی

(میکروداپلوشن براث)

جهت تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی از روش ریز رقیق‌سازی در میکروپلیت (۹۶ خانه‌ای) استفاده شد. ابتدا رقت‌های متوالی (۲، ۴، ۸، ۱۶، ۳۲، ۶۴، ۱۲۸، ۲۵۶ و ۵۱۲) از عصاره‌های آبی و اتانولی پنیرک تهیه گردید. در هر کدام از چاهک‌های میکروپلیت ۹۶ خانه‌ای ۱۰۰ میکرولیتر از محیط کشت مایع ریخته و ۵۰ میکرولیتر از عصاره‌های آبی و اتانولی پنیرک اضافه شد. به تمامی چاهک‌ها ۵۰ میکرولیتر از سوسپانسیون استاندارد باکتریایی اضافه شد. پس از گرمخانه‌گذاری میکروپلیت‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت تمامی خانه‌های به وسیله دستگاه الیزا خوان در ۶۲۰ نانومتر قرائت شد. اولین چاهک‌های حاوی عصاره پنیرک که در ۶۲۰ نانومتر جذبی نداشتند به عنوان حداقل غلظت مهارکنندگی تعیین شد [۱۹ و ۲۰].

۲-۱۰- تعیین حداقل غلظت کشندگی به روش

پورپلیت

برای تعیین حداقل غلظت کشندگی عصاره‌های آبی و اتانولی پنیرک از روش پورپلیت استفاده شد. آخرین غلظتی از عصاره پنیرک که ۹۹/۹ درصد از باکتری‌ها را کشته بود و در پلیت کلنی مشاهده نشد به عنوان حداقل غلظت کشندگی در نظر گرفته شد [۱۸].

۲-۱۱- ارزیابی برهمکنش عصاره‌های آبی و

اتانولی پنیرک به روش بازدارنده افتراقی و روش

Checkboard

واکنش متقابل (برهمکنش) عصاره‌های آبی و اتانولی پنیرک براساس غلظت بازدارنده افتراقی و متد Checkboard انجام پذیرفت [۲۱]. ارزیابی برهمکنش عصاره‌های پنیرک براساس رابطه ۱ محاسبه گردید:

رابطه ۱-

$$FIC_{AE} = (MIC_A \text{ combination} / MIC_A \text{ alone}) + (MIC_E \text{ combination} / MIC_E \text{ alone})$$

A: عصاره آبی و E: عصاره اتانولی

۲-۱۲- آنالیز آماری

کلیه آزمون‌های میکروبی در ۳ تکرار انجام گردید. داده‌های حاصل از تاثیر ۴ سطح متفاوت غلظت (۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) عصاره‌های آبی و اتانولی در سطح معنی‌داری ۵ درصد و آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام شد. با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۸ تجزیه و تحلیل داده‌ها انجام پذیرفت.

۳- نتایج و بحث

نتایج بازده عصاره‌های گیاه پنیرک نشان داد که بازده عصاره اتانولی ۱۱ درصد و بازده عصاره آبی ۹ درصد بود، به طور کلی یک اختلاف ۲ درصدی در بازده عصاره اتانولی در مقایسه با عصاره آبی وجود داشت. میزان استحصال و بازده عصاره گیاهان دارویی یک فاکتور مهم و تأثیرگذار در نتایج ضد میکروبی می‌باشد. این اختلاف ۲ درصد بازده عصاره نشان‌دهنده تأثیر بهتر

میلی گرم بر میلی لیتر مشاهده گردید. به طور کلی میزان مقاومت باکتری‌ها نسبت به عصاره‌های پنیرک از مقاوم‌ترین به حساس‌ترین به ترتیب، *انتروباکتر ائروژینوزا*، *اشرشیا کلی*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *استرپتوکوکوس پیوژنز* بود. کمترین قطر هاله عدم رشد در غلظت ۲۵ میلی گرم بر میلی لیتر مربوط به باکتری گرم منفی *انتروباکتر ائروژینوزا* بود. به طور کلی نتایج نشان داد که عصاره اتانولی گیاه پنیرک دارای اثر ضد میکروبی بیشتری نسبت به عصاره آبی گیاه پنیرک می‌باشد.

نتایج مربوط به حداقل غلظت مهارکنندگی به روش میکروایدولوشن برات در جدول ۳، آورده شده است. نتایج نشان داد که حداقل غلظت بازدارندگی عصاره اتانولی برای باکتری‌های *استرپتوکوکوس پیوژنز*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *اشرشیا کلی* و *انتروباکتر ائروژینوزا* به ترتیب ۸، ۸، ۶۴ و ۶۴ میلی گرم بر میلی لیتر بود در حالی که حداقل غلظت بازدارندگی برای عصاره آبی به ترتیب ۱۶، ۳۲، ۱۲۸ و ۱۲۸ میلی گرم بر میلی لیتر بود. نتایج حداقل غلظت‌کشدگی به روش پورپلیت نیز در جدول ۳، آورده شده است. نتایج نشان داد که حداقل غلظت‌کشدگی عصاره اتانولی گیاه پنیرک برای باکتری‌های *استرپتوکوکوس پیوژنز*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *اشرشیا کلی* و *انتروباکتر ائروژینوزا* به ترتیب ۸، ۱۶، ۶۴ و ۱۲۸ میلی گرم بر میلی لیتر در حالی که حداقل غلظت‌کشدگی عصاره آبی گیاه پنیرک برای باکتری‌های *استرپتوکوکوس پیوژنز*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *اشرشیا کلی* و *انتروباکتر ائروژینوزا* به ترتیب ۱۶، ۳۲، ۲۵۶ و ۲۵۶ میلی گرم بر میلی لیتر بود.

نتایج مربوط به برهمکنش عصاره‌های آبی و اتانولی گیاه پنیرک بر میکروارگانسیم‌های مورد بررسی در این مطالعه در جدول ۴، آورده شده است. نتایج نشان داد که پایین‌ترین کمیت مربوط به حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره پنیرک در موثرترین حالت ترکیبی مربوط به باکتری‌های گرم منفی بود و بیشترین اثر هم افزایی علیه باکتری گرم منفی *اشرشیا کلی* مشاهده گردید.

حلال اتانول بر ترکیبات گیاه پنیرک و استخراج بیشتر ترکیبات این گیاه بوده است.

نتایج حاصل از بررسی اثر ضد میکروبی عصاره‌های آبی و اتانولی گیاه پنیرک به روش تمام ظرف (پورپلیت) در جدول ۱، نشان می‌دهد که در این روش کیفی که در آن غلظت نهایی عصاره آبی گیاه پنیرک ۲ میلی گرم بر میلی لیتر بود، تمامی باکتری‌های مورد آزمون توانستند بر سطح محیط کشت میکروبی رشد کرده و در واقع هیچ اثر بازدارندگی در این غلظت مشاهده نگردید، هر چند لازم به ذکر می‌باشد که در این غلظت، عصاره آبی تا حدودی توانست رشد باکتری گرم مثبت *استرپتوکوکوس پیوژنز* را محدود کند و نسبت به نمونه کنترل میزان رشد باکتری بر سطح محیط کشت کاهش یافت اما همچنان رشد باکتری بر سطح محیط کشت قابل مشاهده بود، سایر باکتری‌ها به طور کامل توانستند رشد نمایند و در غلظت ۲ میلی گرم بر میلی لیتر عصاره آبی پنیرک اثر گذار نبود. نتایج آزمون روش تمام ظرف عصاره اتانولی گیاه پنیرک مشخص کرد که باکتری‌های گرم مثبت *استرپتوکوکوس پیوژنز* و *استافیلوکوکوس اورئوس* تا حدودی تحت تأثیر غلظت عصاره قرار گرفتند و از رشد آن‌ها در سطح محیط کشت جلوگیری شد، هر چند تأثیر آن بر باکتری *استرپتوکوکوس پیوژنز* نسبت به باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* بیشتر بود. در مورد باکتری‌های گرم منفی *اشرشیا کلی* و *انتروباکتر ائروژینوزا* هیچ‌گونه کاهش رشدی در سطح محیط کشت مشاهده نشد و در این غلظت باکتری‌های گرم منفی به طور کامل رشد کردند.

نتایج بررسی اثر ضد میکروبی عصاره‌های آبی و اتانولی گیاه پنیرک به روش دیسک دیفیوژن یا انتشار در آگار به کمک دیسک در جدول ۲، آورده شده است. نتایج نشان داد به طور کلی قطر هاله عدم رشد میکروبی با افزایش غلظت عصاره‌های آبی و اتانولی افزایش می‌یابد، به طوری که بیشترین میزان اثر عصاره اتانولی پنیرک بر باکتری *استرپتوکوکوس پیوژنز* و در غلظت ۱۰۰

Table 1 The anti-bacterial effect of aqueous and ethanolic extract of *Malva sylvestris* on some pathogenic bacteria by pour plate method.

Pathogenic bacteria	Ethanolic extract	Aqueous extract
<i>Streptococcus pyogenes</i>	I	I
<i>Staphylococcus aureus</i>	I	R
<i>Escherichia coli</i>	R	R
<i>Enterobacter aerogenes</i>	R	R

R: Resistant, I: Intermediate

Table 2 Diameter of inhibition halo of aqueous and ethanolic extract of *Malva sylvestris* on some pathogenic bacteria by diffusion method.

Extract	Bacteria	25	50	75	100
aqueous	<i>Streptococcus pyogenes</i>	9.10±0.28a	12.40±0.50b	15.00±0.50c	18.90±0.52d
aqueous	<i>Staphylococcus aureus</i>	8.00±0.50a	11.10±0.54b	13.30±0.52c	16.60±0.50d
aqueous	<i>Escherichia coli</i>	7.10±0.50a	8.20±0.54b	9.90±0.52c	11.50±0.54d
aqueous	<i>Entrobacter aerogenes</i>	-	7.50±0.50a	8.70±0.50b	10.80±0.52c
ethanolic	<i>Streptococcus pyogenes</i>	10.60±0.50a	13.90±0.54b	16.80±0.50c	20.10±0.50d
ethanolic	<i>Staphylococcus aureus</i>	9.50±0.45a	12.20±0.50b	14.10±0.50c	17.30±0.52d
ethanolic	<i>Escherichia coli</i>	8.30±0.45a	9.90±0.28b	12.00±0.45c	13.10±0.50
ethanolic	<i>Entrobacter aerogenes</i>	7.40±0.45a	9.40±0.50b	10.60±0.45c	12.20±0.54

Different letters in each row show the statistically significant differences ($P < 0.05$).

(-): No anti-bacterial activity of aqueous and ethanolic extract of *Malva sylvestris* on some pathogenic bacteria.

Table 3 The result of minimum inhibitory concentration (MIC) by the broth microdilution and minimum bacteriocidal concentration (MBC) of aqueous and ethanolic extract of *Malva sylvestris*.

Extract	Bacteria	MIC	MBC
aqueous	<i>Streptococcus pyogenes</i>	16	16
aqueous	<i>Staphylococcus aureus</i>	32	32
aqueous	<i>Escherichia coli</i>	128	256
aqueous	<i>Entrobacter aerogenes</i>	128	256
ethanolic	<i>Streptococcus pyogenes</i>	8	8
ethanolic	<i>Staphylococcus aureus</i>	8	16
ethanolic	<i>Escherichia coli</i>	64	64
ethanolic	<i>Entrobacter aerogenes</i>	64	128

Bacteria	MICA	MICE	FIC (AE/A)	FIC (EA/E)	(A+B)
<i>Streptococcus pyogenes</i>	8	8	0.50	1	Ind.
<i>Staphylococcus aureus</i>	16	8	0.50	1	Ind.
<i>Escherichia coli</i>	32	16	0.50	0.25	Syn.
<i>Entrobacter aerogenes</i>	32	32	0.50	0.25	Add.

Syn—synergy, Add—addition, Ind—indifference.

عصاره‌های آبی و اتانولی گیاه پنیرک بر تعدادی از باکتری‌های بیماری‌زا مورد بررسی قرار گرفت. در مطالعه حاضر عصاره اتانولی گیاه پنیرک بیشترین اثر را بر باکتری گرم مثبت استرپتوکوکوس پیورنز نشان داد، به طوری که بیشترین هاله عدم رشد باکتری برابر با ۲۰/۱۰ میلی‌متر بود. مقایسه بین هاله عدم رشد باکتری استرپتوکوکوس پیورنز با آنتی-بیوتیک‌های تتراسایکلین و ونکومایسین (هاله عدم رشد به ترتیب ۱۴/۱ و ۱۷/۲) نشان می‌دهد که قطر هاله عدم رشد باکتری اختلاف معنی‌داری با هر دو نوع آنتی‌بیوتیک داشت. به طور کلی با افزایش غلظت عصاره گیاه پنیرک قطر هاله عدم رشد افزایش یافت. مقایسه بین غلظت‌های مختلف عصاره آبی گیاه پنیرک نشان داد که باکتری‌های گرم مثبت استرپتوکوکوس پیورنز و استافیلوکوکوس اورئوس در تمامی غلظت‌ها دارای اختلاف

مصرف بی‌رویه و بدون تجویز داروهای شیمیایی و سنتتیک برای درمان بیماری‌ها باعث خود ایمنی و عوارض بسیار زیادی شده است که مضرات آن بسیار بیشتر از خود بیماری می‌باشد [۲۲]. رجوع به اسناد تاریخی به جا مانده از بشر نشان می‌دهد که انسان‌ها در قرن‌های طولانی از گیاهان دارویی برای درمان بیماری‌ها استفاده می‌کردند. اعتماد بسیار بالای نسل‌های مختلف بشر به کاربرد گیاهان دارویی نشان‌دهنده تأثیر مثبت گیاهان دارویی می‌باشد. با توجه به مقاومت باکتری‌ها نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها، استفاده از گیاهان طبیعی و مشتقات آن‌ها به عنوان جایگزین مطرح شده و در حال حاضر طیف بسیار زیادی از مطالعات و تحقیقات بشر در این راستا می‌باشد. با توجه به اهمیت موضوع، در پژوهش اخیر به بررسی اثر ضد میکروبی

محققان گزارش دادند که عصاره پنیرک دارای اثر بازدارندگی بر میکروارگانیزمها می‌باشد [۲۵]. نتایج این مطالعه با یافته‌های پژوهش حاضر همخوانی داشت.

همانگونه که در جداول ۱ و ۲، آورده شده است نتایج حاصل از روش تمام ظرف و دیسک دیفیوژن نشان داد که عصاره اتانولی گیاه پنیرک دارای اثر ضد میکروبی بیشتری نسبت به عصاره آبی می‌باشد. دلیل این امر را شاید بتوان به میزان بازده (استحصالی) عصاره پنیرک با حلال اتانول مرتبط دانست، زیرا میزان بازده در عصاره اتانولی ۲ درصد بیشتر از عصاره آبی بود. یکی از مهم‌ترین عواملی که روی استحصالی عصاره‌های گیاهان مؤثر می‌باشد نوع حلال به کار برده شده جهت عمل عصاره‌گیری می‌باشد. نتایج این مطالعه مشخص کرد که حلال اتانول به طور مؤثری توانسته باعث خروج ترکیبات مؤثر گیاه پنیرک شده و به دنبال آن میزان بازده بیشتر شده است. ایزلام و همکاران (۲۰۱۰)، فعالیت ضد میکروبی عصاره‌های مختلف گیاه پنیرک را در شرایط آزمایشگاهی مورد بررسی قرار دادند. نتایج این پژوهش نشان داد که اثر ضدباکتریایی عصاره اتانولی بیشتر از عصاره آبی گیاه پنیرک می‌باشد [۲۶]. مارونه و همکاران (۲۰۱۱)، گزارش دادند که گیاه پنیرک دارای ترکیبات فنلی می‌باشد [۲۷]. تبارکی و همکاران (۲۰۱۲)، ترکیبات شیمیایی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی پنیرک را مورد بررسی قرار دادند. نتایج این پژوهشگران نشان داد که عصاره متانولی این گیاه دارای ترکیبات فنولی عمده می‌باشد [۲۸]. از آنجایی که ترکیبات فنلی یکی از ترکیبات مؤثر در اثر ضد میکروبی می‌باشد لذا می‌توان بخشی از اثر ضد میکروبی گیاه پنیرک را به ترکیبات فنلی موجود در این گیاه مرتبط دانست. پژوهش‌های زیادی اثر ضد میکروبی عصاره‌های مختلف گیاهان دارویی را گزارش کرده‌اند. بسیاری از این پژوهشگران طی سال‌های اخیر ترکیبات فنولیک برگ گیاه را یکی از دلایل اثر ضد باکتریایی گیاهان ذکر نموده‌اند [۲۹ و ۳۰].

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که باکتری‌های گرم مثبت نسبت به باکتری‌های گرم منفی دارای حساسیت بیشتری به عصاره‌های آبی و اتانولی گیاه پنیرک می‌باشند و در غلظت کم‌تری رشد آن متوقف می‌شود. با توجه به مطالعات مختلف عموماً گزارش شده است که باکتری‌های گرم منفی نسبت به عصاره‌های استخراجی گیاهان دارای مقاومت بیشتری می‌باشند. دلیل این امر را به تفاوت

معنی‌داری می‌باشند. مقایسه دو به دو غلظت‌های مختلف عصاره آبی نشان داد در غلظت‌های ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر باکتری *اشرشیا کلی* و غلظت‌های ۵۰ و ۷۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر باکتری *انتروباکتر ائروژینوزا* اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید، اما در مورد سایر غلظت‌ها اختلاف معنی‌داری مشاهده شد (جدول ۲). نتایج ضدمیکروبی عصاره اتانولی گیاه پنیرک نشان داد که مقایسه دو تایی میان تمامی غلظت‌ها بر باکتری‌های گرم مثبت دارای اختلاف معنی‌داری می‌باشد، اما در مورد غلظت‌های ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و غلظت ۵۰ و ۷۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر باکتری‌های *اشرشیا کلی* و *انتروباکتر ائروژینوزا* هیچ اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید.

حجتی بناب و همکاران (۱۳۸۹)، اثر ضدمیکروبی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های متانولی پنیرک و حنا را بر تعدادی از باکتری‌های روده‌ای مورد بررسی قرار دادند. این پژوهشگران فعالیت ضدمیکروبی عصاره متانولی پنیرک را به روش‌های انتشار دیسک و حداقل غلظت بازدارنده مورد بررسی قرار دادند. نتایج این پژوهشگران نشان داد که عصاره متانولی گیاه پنیرک بر *اشرشیاکلی* مؤثر می‌باشد، اما اثر جزئی بر باکتری *انتروباکتر* از خود نشان داد [۲۳]. والتر و همکاران (۲۰۱۱)، فعالیت ضدمیکروبی تعدادی از گیاهان مورد استفاده در کشور پاکستان را مورد پژوهش قرار دادند. گیاه پنیرک نیز یکی از گیاهان مورد بررسی این پژوهشگران بود. نتایج این پژوهشگران نشان داد که گیاه پنیرک دارای اثر ضد میکروبی می‌باشد [۲۴]. دوست محمدی و همکاران (۱۳۹۱)، اثر ضد باکتریایی عصاره‌های اتانولی و آبی گیاه پنیرک و نانوذرات نقره بر *استافیلوکوکوس اورئوس* و *سالمونلا تیفی* موریوم را با روش ماکرودایلوژن برات و چاهک مورد بررسی قرار دادند. نتایج این پژوهشگران نشان داد که میزان حداقل غلظت بازدارندگی و کشندگی عصاره اتانولی برای باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* ۶/۵ و ۱۳ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود. همچنین فعالیت ضدمیکروبی عصاره‌های آبی و اتانولی برای *سالمونلا تیفی* برابر بود [۸]. دولگر و همکاران (۲۰۰۴)، اثر ضدمیکروبی تعدادی از گیاهان سنتی مورد استفاده در کشور ترکیه را مورد بررسی قرار دادند. این پژوهشگران اثر ضدمیکروبی عصاره اتانولی گیاه پنیرک را بر تعدادی از باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی مورد آزمون قرار دادند. این

۴- نتیجه گیری

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که گیاه پنیرک اثر ضد باکتریایی بر سویه‌های مورد بررسی به ویژه باکتری‌های گرم مثبت از خود نشان داد. نتایج نشان داد که باکتری‌های استرپتوکوکوس پیوژنز و انتروباکتر ائروژینوزا به ترتیب بیشترین و کم‌ترین حساسیت را در برابر عصاره گیاه پنیرک از خود نشان دادند. نتایج حاصل از برهمکنش عصاره‌های آبی و اتانولی گیاه پنیرک نشان داد که پایین‌ترین کمیت مربوط به حداقل غلظت مهارکنندگی در حالت ترکیبی بر باکتری گرم منفی *اشرشیا کلی* مشاهده شد. پیشنهاد می‌شود در ادامه، تأیید کلینیکی و استانداردسازی فارماکولوژیکی گیاه قبل از استفاده به شکل داروی ضدباکتری مورد مطالعات وسیع‌تری قرار بگیرد تا در صورت مناسب بودن نتایج بتوان از گیاه در داروسازی و پزشکی بهره جست.

۵- منابع

- [1] Petrovska BB. Historical review of medicinal plants' usage. *Pharmacognosy reviews*. 2012;6(11):1-5.
- [2] Cowan MM. Plant products as antimicrobial agents. *Clinical microbiology reviews*. 1999;12(4):564-82.
- [3] Yeganegi M, Comparison methods for the extraction of *Equisetum telmateia* Ehrh. extract using supercritical fluid extraction and Maceration, evaluation of its Antimicrobial activity against food infective and intoxication microorganisms. MSc Thesis. 2016. Ferdowsi University of Mashhad. [Full Text in Persian].
- [4] Amin Gh. The most common traditional medicinal plants. Tehran University of Medical Sciences. Tehran. 1th edition, 2004; 1-300. [Full Text in Persian].
- [5] Henry AG, Piperno DR. Using plant microfossils from dental calculus to recover human diet: a case study from Tell al-Raqā'i, Syria. *Journal of Archaeological Science*. 2008;35(7):1943-50.
- [6] Shokrollahi Sh, Heshmati Gh. Different Aspects of Mallow (*Malva sylvestris*) and Results of New Research Findings: A Review. *Journal of Neyshabur University of Medical Sciences*. 2016;4(1):1-8. [Full Text in Persian].

دیواره سلولی باکتری‌های گرم مثبت با گرم منفی مرتبط می‌دانند. محققان مختلف گزارش نموده‌اند که دیواره سلولی و غشای سلولی باکتری تحت تأثیر قرار گرفته و نفوذپذیری آن‌ها تغییر می‌کند و باعث رهاسازی محتویات درون سلولی می‌گردد که این امر نیز می‌تواند با مختل کردن عملکرد غشا همراه باشد [۳۱ و ۳۲].

نتایج حاصل از برهمکنش عصاره‌های آبی و اتانولی گیاه پنیرک بر باکتری‌ها نشان داد که پایین‌ترین کمیت‌های مربوط به حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره آبی پنیرک در حالت ترکیبی با عصاره اتانولی پنیرک بر باکتری گرم منفی *اشرشیا کلی* بود. بررسی برهمکنش‌های ضدباکتریایی به چهار حالت احتمالی هم‌افزایی (Synergistic)، افزایشی (Additive)، عدم تأثیر (Indifferent) و یا کاهش اثر (Antagonistic) می‌باشد. نتایج این پژوهش نشان داد که در حالت ترکیبی عصاره‌های آبی و اتانولی گیاه پنیرک حالت کاهش اثر (آنتاگونیسمی) مشاهده نشد. طبق یافته‌های این مطالعه مشخص گردید که در مورد باکتری‌های گرم مثبت حالت ترکیب اثر مشخصی بر روی سویه‌ها از خود نشان نداد و طبق نتایج (جدول ۴)، فاقد اثر مشخصی بود. با توجه به اینکه نتایج این مطالعه نشان داد که عصاره پنیرک دارای اثر ضد میکروبی کم‌تری بر باکتری‌های گرم منفی می‌باشد، لذا جهت بهبود اثر ضد میکروبی گیاه پنیرک حالت ترکیبی عصاره را می‌توان پیشنهاد نمود. با توجه به میزان حداقل غلظت مهارکنندگی (مشترک) محاسبه شده برای ترکیب عصاره‌های آبی و اتانولی گیاه پنیرک بیشترین اثر علیه باکتری‌های گرم منفی به ویژه *اشرشیا کلی* مشاهده شد. مطالعات پیرامون بررسی برهمکنش‌های ترکیبات مختلف مهارکنندگی رشد میکروارگانیسم‌ها محدود می‌باشد. مطالعات اندکی نیز به بررسی اثر بر همکنش میان ترکیبات طبیعی مختلف پرداخته‌اند. با این وجود تحقیقی مشابه‌ای در این زمینه یافت نشد که با نتایج این پژوهش مقایسه شود، از این رو مکانیسم تأثیر این ترکیبات ضد میکروبی طبیعی باید مورد بررسی و مطالعه بیشتری قرار گیرد.

- Journal of *Tarbiat Modarres*. 2005.8(1):19-23. [Full Text in Persian].
- [17] Devi KN, Ajithkumar TTP, Kv D, Marudhupandi T, Balasubramanian T. Evaluation of antibacterial and antioxidant properties from brown seaweed, *Sargassum wightii* (Greville, 1848) against human bacterial pathogens. 2012; 143-9.
- [18] Ghaffari M, Taheri A, Zobeidinezhad M. In vitro Evaluation of Antibacterial Effect of Ethyl Acetate Extract of Red Algae (*Gelidiella acerosa*) on Some Gram-positive and Gram-negative Bacteria. *Journal Rafsanjan University Medical Science* 2016; 15(3): 209-22. [Full Text in Persian].
- [19] Ramalivhana J, Obi C, Samie A, Iweriebora B, Uaboi-Egbenni P, Idiaghe J, et al. Antibacterial activity of honey and medicinal plant extracts against Gram negative microorganisms. *African Journal of Biotechnology*. 2014;13(4): 616-625.
- [20] Taebi S, Nosrati M. Evaluation of Antibacterial Activity and Biofilm Inhibition of *Satureja khuzestanica* Jamzad against *Streptococcus mutans*. *Arak Medical University Journal*. 2017; 19 (11) :26-38. [Full Text in Persian].
- [21] Alizadeh Behbahani B, Shahidi F, Yazdi FT, Mortazavi SA, Mohebbi M. Antioxidant activity and antimicrobial effect of tarragon (*Artemisia dracunculoides*) extract and chemical composition of its essential oil. *Journal of Food Measurement and Characterization*. 2017:1-17.
- [22] Jalali M, Abedi D, Asghari G, Rezaie Z. A Study of anti-microbial effect of *Pycnocycla spinosa*'s fruit extracts. *Journal of Mazandaran University Medical Science*. 2007; 17 (59) :76-86.
- [23] Hojjati Bonab Z, Nik khah E. Evaluation of Antioxidant and Antimicrobial Activities of Methanolic Extract from *Malva silvestris* and *Lowsonia inermis* on intestinal bacteria. *Journal of Microbial World*. 2010; 3 (8) :186-198. [Full Text in Persian].
- [24] Walter C, Shinwari ZK, Afzal I, Malik RN. Antibacterial activity in herbal products used in Pakistan. *Pak J Bot*. 2011;43:155-62.
- [25] Dulger B, Gonuz A. Antimicrobial activity of certain plants used in Turkish traditional medicine. *Asian J Plant Sci*. 2004;3(1):104-7.
- [7] Seyyednejad SM, Koochak H, Darabpour E, Motamedi H. A survey on *Hibiscus rosa-sinensis*, *Alcea rosea* L. and *Malva neglecta* Wallr as antibacterial agents. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*. 2010;3(5):351-5.
- [8] Dost Mohamadi M, Nasisri Semnani S, Shapouri R, Alizadeh H, Abdolazade P. Evaluation of antibacterial effects of aquatic and ethanolic extracts of *Malva neglecta* & Silver nanoparticle on *Staphylococcus aureus* and *Salmonella typhimurium* in vivo and in vitro. *Journal of Zabol University of Medical Sciences and Health Services*. 2012; 4 (1) :99-111. [Full Text in Persian].
- [9] Oussalah M, Caillet S, Saucier L, Lacroix M. Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: *E. coli* O157: H7, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*. *Food Control*. 2007;18(5):414-20.
- [10] Bowersox J. Experimental staph vaccine broadly protective in animal studies. *NIH*. 1999;27:55-8.
- [11] Ryan KJ, Ray CG. *Medical microbiology: An introduction to infectious diseases*: McGraw-Hill; 2004.
- [12] Barna Z, Kádár M. The risk of contracting infectious diseases in public swimming pools: a review. *Annali dell'Istituto superiore di Sanita*. 2012;48(4):374-86.
- [13] Jay, J. M., M.Loessner, M., and A.Golden, D. 2000. *Modern Food Microbiology*. 6th ed. Aspen. Maryland.
- [14] Alizadeh Behbahani B, Tabatabaei Yazdi F, Mortazavi SA, Zendeboodi F, Gholian MM, Vasiee A. Effect of aqueous and ethanolic extract of *Eucalyptus camaldulensis* L. on food infection and intoxication microorganisms "in vitro". *Journal of Paramedical Sciences*. 2013;4(3):89-99.
- [15] Murray, P., Baron, R., Tenover, M. (1999). *Manual of Clinical Microbiology*. 7th ed., Washington, D.C: American Society for Microbiology, pp: 1567-1570.
- [16] Sattari M, Shahbazi N, Najjar Sh. The antibacterial activity of methanolic extract of *Eucalyptus* against *Pseudomonas aeruginosa*.

- modulation of expression of genes involved in cell defence system using cDNA microarray. *Toxicology in vitro*. 2008;22(3):567-81.
- [30] Cakir A, Kordali S, Zengin H, Izumi S, Hirata T. Composition and antifungal activity of essential oils isolated from *Hypericum hyssopifolium* and *Hypericum heterophyllum*. *Flavour and Fragrance Journal*. 2004;19(1):62-8.
- [31] Amensour M, Bouhdid S, Fernandez-Lopez J, Idaomar M, Senhaji NS, Abrini J. Antibacterial activity of extracts of *Myrtus communis* against food-borne pathogenic and spoilage bacteria. *International Journal of Food Properties*. 2010;13(6):1215-24.
- [32] Taheri A, Seyfan A, Jalalinezhad S, Nasery F. Antibacterial effect of *Myrtus communis* hydro-alcoholic extract on pathogenic bacteria. *Zahedan Journal of Research in Medical Sciences*. 2013;15(6):19-24.
- [26] Islam M, Ali E, Saeed MA, Jamshaid M, Khan MTJ. Antimicrobial and Irritant activities of the extracts of *Malva Parviflora* L., *Malvastrum Coromandelianum* L. and *Amaranthus viridis* L.-A Preliminary Investigation. *Pak J Pharmacy*. 2010;20:3-6.
- [27] Marouane W, Soussi A, Murat J-C, Bezzine S, El Feki A. The protective effect of *Malva sylvestris* on rat kidney damaged by vanadium. *Lipids in health and disease*. 2011;10(1):65-70.
- [28] Tabaraki R, Yosefi Z, ASADI GHA. Chemical composition and antioxidant properties of *Malva sylvestris* L. *Journal of Research in Agricultural Science*. 2012;8(1):59-68.
- [29] Hayder N, Bouhlel I, Skandrani I, Kadri M, Steiman R, Guiraud P, et al. In vitro antioxidant and antigenotoxic potentials of myricetin-3-o-galactoside and myricetin-3-o-rhamnoside from *Myrtus communis*:



Investigation of the minimum inhibitory concentration and minimum bactericidal concentration *Malva sylvestris* extracts and their interaction on some pathogenic bacteria *in vitro*

Shirani Bidabadi, Kh.^{1*}

1. PhD Student in Food Science and Technology, Food Microbiology, Islamic Azad University Tehran North Branch

ARTICLE INFO

ABSTRACT

Article History:

Received 04 September 2020
Accepted 04 November 2020

Keywords:

Malva sylvestris,
Extract,
Fractional inhibitory
concentration,
Antimicrobial effect.

DOI: 10.52547/fsct.18.03.07

*Corresponding Author E-Mail:
Khadijeh.shirani@hotmail.com

Malva sylvestris belongs to Malvaceae family. The biological active compounds of *Malva sylvestris* describe probably its biological activities and therapeutic activity. The purpose of this study was to investigate the antibacterial effect of *Malva sylvestris* on some pathogenic bacteria “*in vitro*”. In this study, the extraction was carried out by the maceration method. The pour plate method and disk diffusion method were adopted to determine the susceptibility of the pathogenic strains against *Malva sylvestris* extracts. The broth microdilution and fractional inhibitory concentration index (FICI) were employed to determine antimicrobial effect. The minimum bactericidal concentration was measured by pour plate method. The concentration 100 mg/ml of the ethanolic extract showed the best result on *Streptococcus pyogenes* and *Staphylococcus aureus* ($p < 0.05$). *Enterobacter aeruginosa* was resistant to most of the aqueous and ethanolic *Malva sylvestris* extracts. Minimum inhibitory concentration of the ethanolic extract of *Malva sylvestris* for *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Enterobacter aeruginosa* were 8, 8, 64 and 64 mg/ml, respectively and the aqueous extract were 16, 32, 128, and 128 mg/ml, respectively. The ethanolic extract of *Malva sylvestris* had more inhibitory effect than the aqueous extracts on pathogenic strains. Furthermore, aqueous and ethanolic *Malva sylvestris* extracts showed greater inhibitory effect on gram-positive bacteria in comparison with gram-negative bacteria.