

## بررسی خواص ضد اشریشیاکلی عصاره هیدروالکلی چند گونه گیاه دارویی بومی ایران

عزت اله فتحی هفشجانی<sup>۱\*</sup>، مجید غلامی آهنگران<sup>۱</sup>، محسن جعفریان دهکردی<sup>۲</sup>، محمود بهمنی<sup>۳</sup>

۱. بخش بیماری های طیور، گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، شهرکرد، ایران.

۲. بخش کلینیکال پاتولوژی، گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، شهرکرد، ایران.

۳. فارغ التحصیل دکتری حرفه ای دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، شهرکرد، ایران.

\*نویسنده مسئول: ezzatfathi@yahoo.com

### چکیده

با توجه به ظهور گونه های مقاوم به آنتی بیوتیک باکتری اشریشیاکلی و به دلیل عوارض کم داروهای گیاهی، در مطالعه اخیر به مقایسه خواص ضد باکتریایی سه گونه گیاه دارویی بومی ایران شامل گیاهان گل میمونی بیابانی، بلوط و بومادران بر باکتری اشریشیاکلی جدا شده از موارد مبتلا به کلی باسیلوز طیور پرداخته شد. اثرات ضد باکتریایی عصاره هیدروالکلی به روش رقت سازی در ظروف کوچک و انتشار در پلیت بررسی شد. در رقت سازی از آنتی بیوتیک های فسفومایسین کلسیم (۲۵٪) و فلورفنیکل به عنوان استاندارد استفاده شد و عصاره های ذکر شده با آنتی بیوتیک های اریترومایسین، داکسی سایکلین، آمپی سیلین، تتراسایکلین، استرپتومایسین، سولفادیازین - تری متوپریم مقایسه گردید. نتایج نشان داد از ۸ آنتی بیوتیک مورد مطالعه تنها آمپی سیلین، اریترومایسین و فسفومایسین هاله ممانعت از رشد تشکیل دادند. و سایر آنتی بیوتیک ها به تنهایی و همراه با عصاره ها هیچ هاله ممانعت از رشدی تشکیل ندادند. حداقل غلظت مهاری در بخش رقت سازی در ظروف کوچک به میزان ۰/۵۲ بود، اما برای هر سه عصاره و آنتی بیوتیک فلورفنیکل هیچ اثر مهاری مشاهده نشد. مطالعه حاضر نشان داد افزایش مقاومت آنتی بیوتیکی در بین سوش های اشریشیاکلی جدا شده از موارد کلی باسیلوز طیور وجود دارد و بنظر می رسد گیاهان مورد بررسی که اثرات ضد باکتری آنها در برخی موارد ثابت شده در این مورد فاقد خاصیت ضد باکتریایی می باشند.

**کلمات کلیدی:** کلی باسیلوز طیور، گل میمونی بیابانی، بلوط، بومادران، مقاومت آنتی بیوتیکی

### مقدمه

بیوتیک ها مقاومت نشان می دهند لذا شاید بتوان از داروهای گیاهی به تنهایی و یا همراه برخی از آنتی بیوتیک ها جهت درمان استفاده کرد. لذا هدف از مطالعه اخیر بررسی میزان حساسیت باکتری اشریشیاکلی جدا شده از موارد کلی باسیلوز طیور در استان چهار محال و بختیاری به چند گونه گیاه دارویی بومی ایران شامل گیاه گل میمونی بیابانی، بلوط و بومادران می باشد ( Shirazi et al., 2003). اگرچه گزارشات متعددی از اثرات آنتی بیوتیکی

بیماری کلی باسیلوز یک بیماری عفونی سیستمیک طیور است که با اشکال مختلف در پرندگان مبتلا ظاهر می شود و باعث کاهش رشد، افزایش ضریب تبدیل غذایی، افزایش احتمال عفونت های ثانویه و تلفات می گردد ( John Barnes et al., 2008). تشخیص این بیماری بر اساس جداسازی باکتری می باشد و چون در این باکتری سویه های متعددی وجود دارد که توانایی بیماریزایی متفاوتی دارند و از طرفی برخی سویه ها سریعاً به برخی آنتی

گیاهان ذکر شده در عفونت های استافیلوکوکی، سودوموناس (Abbasi et al., 2007)، کاندیدیا (Bahmani et al., 2008) و حتی ضد اشريشیاکلی در انسان (Sharafati et al., 2008) وجود دارد اما بررسی اختصاصی بر اشريشیاکلی طیور صورت نگرفته که در این مطالعه به ارزیابی آن پرداخته می شود.

### مواد و روش کار

برای بررسی خاصیت ضد باکتریایی گیاه گل میمونی بیابانی، بلوط و بومادران، گیاهان مورد نظر از نواحی کوهستانی رشته کوه های زاگرس در استان ایلام و چهارمحال و بختیاری در بهمن و اسفند ۱۳۸۷ جمع آوری شد و در مرکز پژوهش های گیاهان دارویی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد به شناسایی جنس و گونه پرداخته شد. باکتری اشريشیاکلی مورد بررسی از موارد کلی باسیلوز طیور ارجاعی به بخش بیماری های طیور دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد جدا شد. عصاره هیدروالکلی از گیاهان ذکر شده به روش پرکولاسیون تهیه شد. به این منظور ۵۰ گرم پودر خشک شده گیاه مورد نظر با ۱۴۰ میلی لیتر اتانول ۹۶ درجه همراه با ۶۰ میلی لیتر آب مقطر استریل مخلوط شد و به مدت ۴۸ ساعت در آن ۶۰ درجه نگه داری شد. عصاره اولیه از صافی فلزی عبور داده شد و با دستگاه تقطیر در خلاء تغلیظ شد (Rutary, Germany). مجدداً در اون ۶۰ درجه نگه داری شد و نهایتاً ۶ گرم عصاره هیدروالکلی گیاه گل میمونی، ۹ گرم

بلوط و ۷ گرم بومادران حاصل شد. ۱۰۰ میلی گرم عصاره هیدروالکلی در یک میلی لیتر آب مقطر استریل و ۲۰ میکرولیتر در متیل سولفوکساید (DMSO) حل شد و رقت های یک تا ۱۰ درصد عصاره به ۱۰ چاهک میکروپلیت به طور مجزا اضافه شد. از سوش باکتری مورد مطالعه سوپانسیونی معادل لوله شماره ۱ مک فارلند تهیه شد که در طول موج ۶۰۰ نانومتر کدورتی معادل ۰/۲۵۷ حاصل می کند و حاوی یک میلیون باکتری در هر میلی لیتر می باشد. فعالیت ضد میکروبی عصاره های هیدروالکلی با دو روش رقت سازی در ظروف کوچک (Microbroth Dilution Method) و روش انتشار دیسک (Disc Diffusion Method) انجام شد. در روش انتشار دیسک به هر پلیت کشت ۱۰ میکرولیتر سوسپانسیون میکروبی تلقیح شد و به روش خطی کشت داده شد. روی هر پلیت یک دیسک استریل ۶ میلی متری قرار گرفت و ۱۰ میکرولیتر دی متیل سولفوکساید و ۳۰ میکرولیتر از عصاره ذکر شده اضافه شد. از آنتی بیوتیک های فسفومايسين کلسیم ۲۵٪، اريتروميسين، داکسی سایکلین، آمپی سیلین، تتراسایکلین، استرپتومايسين، سولفادiazین-تری متوپریم و فلورفنیکل به عنوان دیسک های شاهد استاندارد استفاده شد. در روش رقت سازی در ظروف کوچک ۱۰۰ میکرولیتر محیط کشت نوترینت مایع به هر چاهک میکروپلیت اضافه شد و سپس رقت های یک تا ۱۰ درصد از فسفومايسين اضافه شد. میکروپلیت ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه انکوبه شده و نتایج مورد بررسی قرار گرفت.

جدول ۱- کدورت و درصد ممانعت از رشد آنتی بیوتیک فسفومایسین

درصد ممانعت از رشد	میزان کدورت (Optical Density)	غلظت آنتی بیوتیک (درصد)
۶	۰/۲۴۱	۱
۱۰	۰/۲۳۰	۲
۲۱	۰/۲۰۰	۳
۲۴	۰/۱۹۴	۴
۳۱	۰/۱۷۶	۵
۳۸	۰/۱۵۷	۶
۴۶	۰/۱۳۸	۷
۵۲	۰/۱۲۰	۸
۵۶	۰/۱۱۱	۹
۶۰	۰/۱۰۰	۱۰

نتایج بررسی قطر هاله عدم رشد در غلظت های داده ها نشان می دهد بین قطر هاله ها به دنبال استفاده مختلف فسفومایسین نشان داد با افزایش غلظت قطر مهایری رشد کمتر می شود. علاوه بر این بررسی آماری از تمامی غلظت های فسفومایسین اختلاف آماری وجود دارد.

جدول ۲- قطر هاله عدم رشد در آنتی بیوتیک های مختلف

آنتی بیوتیک	میزان ماده موثره آنتی بیوتیک (میلی گرم)	میزان کدورت منفرد	همراه با میمونی بیابانی	همراه با بلوط	همراه بومادران
اریترومایسین	۱۵	۷	۷	۷	۷
داکسی سایکلین	۳۰	۰	۰	۰	۰
فلورفنیکل	۳۰	۰	۰	۰	۰
آمپی سیلین	۳۰	۷	۷	۷	۷
تتراسایکلین	۱۰	۰	۰	۰	۰
استرپتومایسین	۱۰	۰	۰	۰	۰
تریمتوپریم-سولفادیازین	-	۰	۰	۰	۰
فسفومایسین	۳۰	۳۰	۳۰	۳۰	۳۰

جدول ۳- قطر هاله عدم رشد عصاره های گیاهی به روش دیسک گذاری در پلیت

نوع عصاره	میزان ماده موثره (میلی گرم)	قطر هاله عدم رشد (میلی متر)
گل میمونی بیابانی	۳۰	۰
بلوط	۳۰	۰
بومادران	۳۰	۰

## بحث

معنی دار در بین این دو گروه بوده است (Tajic and Shokouhi, 2008). همچنین بهمنی و همکاران در سال ۱۳۸۷ گزارش کردند حداقل غلظت ممانعت کننده از رشد عصاره الکلی گل میمونی بیابانی بر سویه بومی قارچ کاندیدا آلبیکانس در غلظت های ۴۵ و ۲۲/۵ میکروگرم بر میلی لیتر، به میزان ۵۹٪ و ۵۸٪ و برای آمفوتریسین B در غلظت ۳۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر ۵۹٪ بوده است (Jahanshahi et al., 2004). همچنین در بررسی دیگری که توسط بهمنی و همکاران در سال ۱۳۸۸ انجام شد گزارش شد گل میمونی بیابانی قادر به ممانعت از رشد ۶۱ درصدی قارچ ساپروگلینا می شود (Sharafati et al., 2008). در پژوهشی که تاجیک و همکاران در سال ۱۳۸۷ انجام دادند خواص ضد میکروبی عصاره آبی و الکلی بومادران بر چند باکتری از جمله باکتری های استافیلوکوکوس، اشیریشیاکلی و سودوموناس مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد حساس ترین باکتری به این ترکیب،

با توجه به وقوع بسیار شدید بیماری کلی باسیلوز در گله های گوشتی و از طرفی مقاومت آنتی بیوتیکی زیادی که در باکتری اشیریشیاکلی رخ می دهد، استفاده از داروهای گیاهی در حال حاضر بیشتر مورد توجه قرار گرفته است. در ارتباط با داروهای گیاهی مورد بررسی در مطالعه اخیر، گزارشات متعددی وجود دارد که حاکی از اثرات مفید این گیاهان در آلودگی های باکتریایی است. از این گزارشات می توان به مطالعه شرافتی و همکاران در سال ۱۳۸۸ اشاره کرد که اثر عصاره اتانولی گل میمونی را بر باکتری اشیریشیاکلی بررسی کردند و مشاهده کردند که حداقل غلظت مهاری برای این گیاه دارویی ۹۰ میلی گرم می باشد و این دارو می تواند بر رشد باکتری اشیریشیاکلی اثر منفی داشته باشد (Bahrami et al., 2008). در بررسی دیگری قاسمی پیربلوطی به اثرات ضد قارچی (کاندیدا/آلبیکانزاس) گل میمونی بیابانی در مقایسه با آمفوتریسین B پرداخته است که نشان دهنده اختلاف

گردند که این موضوع نشان می‌دهد با گذشت زمان مقاومت آنتی بیوتیکی در حال افزایش می‌باشد و باید راهکارهای صحیح و موثری علیه این بیماری صورت بگیرد تا صنعت مرغداری در آینده دچار مشکل نشود. نتایج مطالعه فوق حاکی از افزایش مقاومت آنتی بیوتیکی در سویه‌های این باکتری است و از بین آنتی بیوتیک‌های مورد مطالعه تنها فسفومایسین اثر ممانعت از رشد بر اشیریشیا کلی جدا شده داشته است که می‌توان از این آنتی بیوتیک در بیماری کلی باسیلوز طیور استفاده موثری برد.

باکتری استافیلوکوکوس و مقاوم‌ترین گونه باکتریایی سودوموناس می‌باشد (Ghasemi et al., 2008). در پژوهش دیگری جهان شاهی و همکاران در سال ۱۳۸۳ نشان دادند عصاره ترکیبی بلوط و بادرنجبویه به طور معنی‌دار در بهبود زخم‌های دهانی با سبب شناسی نامعلوم موثر است (Ghasemi et al., 2008). با توجه به اثرات ضد میکروبی و ضد قارچی گیاهان مورد بررسی، مطالعه حاضر نشان می‌دهد گیاهان مورد آزمایش در حالت تنهایی و نیز ترکیب با برخی آنتی بیوتیک‌های مورد استفاده نتوانستند باعث مهار رشد باکتری اشیریشیا کلی جدا شده از طیور

## References

1. Abbasi, N., Azizi Jalilian, F., Abdi, M., and Saifmanesh, M. 2007. A comparison study of the antibacterial effect of *Scrophularia striata* bioass: extract and selective antibiotics against staphylococcus aureus and pseudomonas aerogenosa. Journal of Medical plants, 6: 10-18.
2. Bahmani, M., Momtaz, H., Kazemian, H., Ghasemi, A., and Avijgan, M. 2008. The anti-candidial effect of amphotricin B in vitro condition, Clinical Veterinary Congress, Islamic Azad university of Tabriz Branch.
3. Ghasemi, A. 2008. Medical Plants. Saman Danesh Publishing Company, 158-176.
4. Ghasemi, A., Bahmani, M., Momtaz, H., Avijgan, M., and Usefi, H. 2008, The anti-candidial effect of some herbal plants of Iran., first international congress of traditional medicine, Sari, Iran, P. 137.
5. Jahanshahi, G., Moattar, F., and Soltani, M. 2004. The effect of Balout and Badanjubieh in control of minor ulcer of mouth. Medical Journal of Shahid Beheshti University. 22: 19-25.
6. John Barnes, H., Jean-pierre Vaillancourt, and Gross, W.B. 2008. Infection. In: Saif, Y.M., Barnes, H.J., Glisson, J.R., Fadly, A.M., McDougald, L.R., Swayne, D.E., (Eds.) Diseases of poultry,

- Ames, Iowa State University Press. USA. pp. 631-653.
7. Shirazi, M.H., Fazli, M.R., Sultan Dallal, M.M., Eshraghi, S., Jamalifar, H., and Alamulhoda, E. 2003. A comparative study on the antimicrobial effect of som medicinal herbal extract and selective antibiotics against the clinical isolates of *Helicobacter pylori*. *Journal of Medical plants*, 27: 53-60.
  8. Sharafati, F., Sharafati, R., and Momeni, M. 2008. The effect of *Gole meimuni* extract on *Escherichia coli*, *Shahrekord Medical Journal*, 32-37.
  9. Tajic, H., and Shokouhi, F. 2008. Comparative evaluation of antibacterial effect of *Bumadaran* on pathogenic micro-organism. *Journal of Urmia medical science*, 19: 302-309.