Archive of SID

Journal of Veterinary Microbiology

نشریه میکربیولوژی دامپزشکی/ دوره پانزدهم، شماره اول، ۱۳۹۸، پیاپی ۳۸: ۴۸-۳۹

# بررسی اثرات ضدباکتریایی عصاره‌های گیاه صبر زرد (*Aloe vera*) علیه *ویبریو کلرا* (*Vibrio cholerae*) و *لیستریا مونوسایتوژنز* (*Listeria monocytogenes*)

**مهین ریگی[۱]، سعیده سعیدی[۲]، علی مقصودی[۳]*، صفورا بزی[۴]**

۱- مربی پژوهشکده تالاب بین‌المللی‌هامون، دانشگاه زابل، زابل، ایران

۲- مربی پژوهشکده زیست‌فناوری کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران

۳- استادیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی؛ گروه بیوانفورماتیک؛ و پژوهشکده زیست‌فناوری کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران

۴- مربی گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه پیام نور زابل، زابل، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱/۲۴ تاریخ پذیرش:۱۳۹۷/۶/۵

**چکیده**

هدف از این مطالعه بررسی اثرات ضد میکروبی عصاره آبی، اتانولی، متانولی، استونی، کلروفورمی و اتیل استات حاصل از برگ گیاه صبر زرد (*Aloe vera*) بر روی دو باکتری بیماری‌زای ماهی، *ویبریو کلرا* (*Vibrio cholerae*) و *لیستریا مونوسایتوژنز* (*Listeria monocytogenes*) بود. عصاره گیاه صبر زرد با استفاده از دستگاه روتاری بدست آمد و باکتری‌های *ویبریو کلرا* و *لیستریا مونوسایتوژنز* از کلیکسیون قارچ و باکتری ایران تهیه شدند. حداقل غلظت کشندگی (MBC) و حداقل غلظت مهار کنندگی (MIC) عصاره‌ها با روش رقت-سازی در چاهک تعیین گردید. همچنین قطر هاله مهاری با استفاده از روش دیسک‌گذاری تعیین شد. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که عصاره آبی گیاه صبر زرد، علی‌رغم خواص مهاری و کشندگی علیه *لیستریا مونوسایتوژنز*، هیچگونه تاثیری بر *ویبریو کلرا* نداشت. بیشترین خواص مهارکنندگی و کشندگی علیه هر دو باکتری مورد مطالعه، مربوط به عصاره کلروفورمی صبر زرد بود، هرچند تاثیر ضد باکتریایی آن بر *لیستریا مونوسایتوژنز*، بیشتر بود. عصاره کلروفومی حتی در رقیق‌ترین حالت نیز دارای خاصیت مهارکنندگی بود. به همین ترتیب، بیشترین قطر هاله مهاری عصاره صبر زرد مربوط به حلال کلروفورم و علیه *لیستریا مونوسایتوژنز* بود. با توجه به اینکه صبر زرد به راحتی به صورت خوراکی مصرف می‌شود و با توجه به قابل دسترس بودن و قیمت مناسب آن، امکان استفاده از آن به عنوان جایگزین آنتی‌بیوتیک‌های مرسوم و مواد شیمیایی ضد عفونی‌کننده استخرهای پرورشی وجود دارد.

**کلمات کلیدی: ماهی پرورشی، اثر باکتری‌کشی، صبر زرد، *ویبریو کلرا*، *لیستریا مونوسایتوژنز***

*نویسنده مسئول: علی مقصودی

آدرس: گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی؛ گروه بیوانفورماتیک؛ و پژوهشکده زیست‌فناوری کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران. تلفن: ۰۹۳۶۵۸۴۳۸۲۳

پست الکترونیک: Alimaghsoudi@uoz.ac.ir

www.SID.ir

Archive of SID



**مقدمه**

علاوه بر صید آبزیان از آب‌های آزاد، پرورش آبزیان در آب‌های شیرین داخلی به عنوان یکی از فعالیت‌های مهم اقتصادی و تولیدی در بسیاری از کشورهای جهان به‌شمار می‌رود. در این خصوص، کمبود منابع آبی سبب شده که در بیشتر کشورها پرورش انبوه و متراکم جایگزین روش‌های نیمه متراکم و غیرمتراکم گردد. در چنین شرایطی آبزیان بیشتر در معرض شرایط استرس‌زا و خطر عفونت با باکتری‌ها قرار دارند. شیوع بیماری باعث بالارفتن نرخ مرگ و میر و کاهش بازده تولید شده و ضررهای اقتصادی بالایی را برای پرورش‌دهنده به وجود می‌آورد. از طرفی سلامت مصرف‌کنندگان محصولات آلوده نیز به خطر می‌افتد (۱).

باکتری *ویبریو کلرا* (*Vibrio cholerae*) عامل بیماری وبا می‌باشد و عضوی از خانواده Vibrionaceae است. شکل این باکتری بصورت میله‌ای خمیده می‌باشد. باکتری *ویبریو کلرا* گرم منفی، اکسیداز مثبت، بدون اسپور و احیاکننده نیترات است که حدود ۱/۴ تا ۲/۶ میکرومتر طول دارد و با استفاده از یک دم قطبی غلاف‌دار حرکت می‌کند. این باکتری بی‌هوازی اختیاری بوده و قادر به متابولیسم تخمیری می‌باشد. باکتری *ویبریو کلرا* بطور مستقیم و یا از طریق آب آلوده و آبزیانی که در این آب‌ها زندگی می‌کنند به انسان منتقل می‌شود. همچنین ممکن است انتقال باکتری به انسان توسط پرندگان ماهی‌خواری که از ماهیان آلوده تغذیه نموده باشند صورت گیرد (۲، ۳). لذا مصرف خوراکی آبزیان بویژه صدف‌ها و ماهیان آلوده به این باکتری که به خوبی پخته نشده باشند به سادگی می‌تواند موجب سرایت باکتری به مصرف‌کنندگان می‌شود (۴). مهمترین نشانه ابتلا به این باکتری اسهال آبکی است که ناشی از یک سم پروتئینی به نام Cholera toxin است. همچنین فرد مبتلا با کم شدن ادرار به شدت احساس تشنگی نموده و بدون حالت تهوع مکرراً استفراغ می‌کند.

بیماری لیستریوزیس توسط باکتری *لیستریا مونوسایتوژنز* (*Listeria monocytogenes*) ایجاد می‌شود که از جمله شایع‌ترین بیماری‌های منتقل شده توسط غذا (Food-borne disease) است. باکتری *لیستریا مونوسایتوژنز* از خانواده Listeriaceae می‌باشد. این باکتری گرم مثبت، بی هوازی اختیاری، کاتالاز مثبت، اکسیداز منفی و غیر اسپورزا است. تظاهرات لیستریوزیس در افراد بالغ شامل مننگوانسفالیت، سپتی‌سمی و سقط جنین در زنان باردار و سرکوب سیستم ایمنی در نوزادان و افراد مسن می‌باشد (۵، ۶). بطورکلی نزدیک به ۱۵ درصد از مبتلایان به لیستریوزیس جان خود را از دست می‌دهند. هرچند این باکتری اغلب توسط غذاهای با منشاء دامی (گوشت و محصولات لبنی) و تخم خام و نیم‌پز پرندگان به انسان منتقل می‌شود، ولی موارد متعددی از آلودگی غذاهای دریایی از جمله ماهی نیز گزارش شده است (۷). این باکتری در محیط نیز زنده می‌ماند و امکان جداسازی آن از خاک و سیلو وجود دارد.

با توجه به شیوع اجرام بیماری‌زا از جمله *ویبریو کلرا* و *لیستریا مونوسایتوژنز* در استخرها و دریاچه‌های پرورش آبزیان، پرورش‌دهندگان از روش‌های متعددی برای ضدعفونی آب استخر و جلوگیری از شیوع این میکروب‌ها و سایر اجرام بیماری‌زا استفاده می‌نمایند. از جمله این روش‌ها استفاده از برخی ترکیبات شیمیایی و غیر طبیعی برای ضدعفونی و گندزدایی آب استخرها و همچنین مصرف آنتی‌بیوتیک برای مقاوم نمودن آبزیان در برابر عفونت ناشی از این باکتری‌ها به همراه جیره غذایی است (۷، ۸). اما باقی ماندن ترکیبات شیمیایی و

www.SID.ir

Archive of SID


آنتی‌بیوتیک‌ها در محصولات غذایی بدست آمده از آبزی‌پروزی خطرات جبران‌ناپذیری را برای مصرف-کنندگان این محصولات بهمراه دارند. یکی از راه‌های جایگزین، استفاده از ترکیبات بدست آمده از گیاهان دارویی به عنوان جایگزین ضد عفونی‌کننده‌ها و آنتی-بیوتیک‌ها برای مهار یا کشتن اجرام میکروبی عفونت‌زا است (۹).

گیاهان دارویی ممکن است بومی محل مورد بررسی باشند یا از مناطق دیگری تهیه شده باشند (۱۰). در کشور ایران به دلیل تنوع اقلیمی قابل ملاحظه، رویش-گاه بسیاری از گیاهان می‌باشد که برخی تنها در ایران می‌رویند. از طرفی با توجه به این تنوع اقلیمی و جغرافیایی، گونه‌های غیر بومی به راحتی در مناطق مستعد کشور سازش یافته و تکثیر می‌شوند. یکی از گیاهان دارویی که در مناطق گرمسیر می‌روید، گیاه صبر زرد (*Aloe vera*) است که از خانواده سریشیان (Asphodelaceae) می‌باشد. هرچند به نظر می‌رسد موطن این گیاه شمال افریقا باشد، اما امروزه در مناطق بسیار گسترده‌ای از دنیا از جمله ایران پراکنده شده است و در بسیاری از کشورها بصورت یک گیاه تجاری و دارویی کشت می‌شود. این گیاه به دلیل وجود ترکیبات فعال شناسایی شده موجود در ژل آن، که اغلب خواص دارویی دارند، مورد توجه در صنایع غذایی، نوشیدنی‌ها، دارویی و آرایشی-بهداشتی قرار گرفته است (۱۱). محصولات دارویی و بهداشتی که در آنها از صبر زرد استفاده شده باشد، اغلب عوارض جانبی برای مصرف‌کنندگان نشان نداده‌اند (۱۲). عمده‌ترین استفاده صبر زرد در طب سنتی در درمان مشکلات پوستی است. با وجود این خواص ضدمیکروبی این گیاه نیز گزارش شده است (۱۳). با توجه به فراوانی این گیاه در کشور، قابلیت دسترسی آسان، قیمت مناسب و قابلیت مصرف خوراکی آن، هدف از مطالعه حاضر بررسی خواص مهارکنندگی و کشندگی عصاره‌های آبی، اتانولی، متانولی، استونی، کلروفورمی و اتیل استات گیاه صبر زرد علیه عوامل باکتریایی بیماری‌های وبا و لیستریوزیس می‌باشد.

## مواد و روش‌ها

### عصاره صبر زرد

برگ‌های گیاه صبر زرد در پاییز ۱۳۹۵ از مزرعه تحقیقاتی پژوهشکده کشاورزی دانشگاه زابل جمع-آوری شد. سپس نمونه برگ‌ها خشک شده و آسیاب شدند. در ادامه ۲۰ گرم از برگ گیاه پودر شده بطور جداگانه در حلال‌های آب، اتانول، متانول، استون، کلروفورم و اتیل استات خیسانده و به مدت ۲۴ ساعت روی شیکر نگهداری شدند. بعد از یک روز، مواد از کاغذ صافی شماره ۲ عبور داده شدند. سپس حلال‌ها توسط دستگاه روتاری خلاء از مواد فیلتر شده خارج شدند. عصاره غلیظ شده تا حاصل شدن عصاره خالص و زدوده شدن کامل حلال، به مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. در نهایت عصاره‌های بدست آمده خشک شده و پس از توزین، تا زمان آزمایش در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در یخچال نگهداری شد.

### تهیه باکتری و ذخیره‌سازی

باکتری‌های استاندارد *ویبریو کلرا* و *لیستریا مونوسایتوژنز* از کلیکسیون قارچ و باکتری ایران تهیه شده و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد در محیط مایع نوترینت براث گرمخانه‌گذاری شدند. در ادامه، پس از ۲۴ ساعت نگهداری در محیط کشت نوترینت براث حاوی ۱۰ درصد گلیسرول استریل، در فریزر با دمای ۲۰- درجه سانتی گراد برای استفاده بعدی ذخیره‌سازی شدند.

www.SID.ir

Archive of SID



## تهیه سوسپانسیون باکتریایی

باکتری‌های *ویبریو کلرا* و *لیستریا مونوسایتوژنز* پس از یخ‌گشایی در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، در محیط نوترینت براث کشت داده شدند. همچنین به منظور بررسی کلونی‌های خالص از نمونه‌های باکتریایی روی محیط جامد TSA بصورت خطی کشت داده شده و برای این منظور به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه در انکوباتور قرار داده شدند. پس از ۲۴ ساعت از کلونی‌های خالص هر باکتری برداشته و در آب مقطر استریل کدورتی معادل ۰/۵ مک فارلند ساخته شد. برای اطمینان از غلظت باکتری‌ها با اسپکتروفتومتر جذب آن‌ها در طول موج ۶۰۰ nm قرائت شد. تراکم باکتری‌ها با غلظت $۱/۵ \times ۱۰^{۸}$ cfu/ml جذبی معادل ۰/۱- ۰/۰۸ دارد.

## تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی و تعیین حداقل غلظت کشندگی

برای تعیین حداقل غلظت مهار کنندگی ( Minimum inhibitory concentration, MIC) و حداقل غلظت باکتری‌کشی ( Minimum Bactericidal concentration, MBC) عصاره‌های گیاه صبر زرد از روش رقت‌سازی در چاهک استفاده شد. برای این منظور ابتدا به هر چاهک میکروپلیت مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از محیط مایع مغذی مولر هینتون (MHB) اضافه شد. سپس به چاهک اول ۱۰۰ میکرولیتر از محلول رقیق شده هر یک ازعصاره‌های آبی، اتانولی، متانولی، استونی، کلروفورمی و اتیل استات صبر زرد اضافه شده و پس از مخلوط کردن ۱۰۰ میکرولیتر از چاهک اول برداشته به چاهک دوم اضافه شد و بدین ترتیب تا آخرین چاهک این کار انجام شد. از چاهک آخر ۱۰۰ میکرولیتر محیط کشت مخلوط شده با عصاره خارج گردید. سپس مقدار ۱۰ میکرولیتر از سوسپانسیون میکروبی حاوی $۱۰^{۸}$ واحد در میلی لیتر (معادل ۰/۵ مک فارلند) از هر یک از باکتری‌های *ویبریو کلرا* و *لیستریا مونوسایتوژنز* بطور جداگانه اضافه شده و در انکوباتور در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفت. اولین چاهکی که از رشد باکتری پس از قرار دادن در انکوباتور جلوگیری کرده باشد به عنوان حداقل غلظت مهارکننده در نظر گرفته شد. برای اطمینان از چاهک‌های شفاف ۱۰ میکرولیتر برداشته به محیط مولر هینتون آگار منتقل گردید و پس از ۲۴ ساعت اولین رقتی که توانسته بود ۹۹/۹ درصد باکتری را از بین ببرد به عنوان حداقل غلظت کشنده تعیین شد.

## رقت‌سازی عصاره و تهیه دیسک‌های حاوی عصاره

ابتدا غلظت ppm ۱۰۰ از عصاره تهیه می‌شود. سپس جهت تهیه دیسک‌های حاوی عصاره از دیسک‌های بلانک (پادتن طب) استفاده شد. بدین ترتیب که دیسک‌های بلانک در لوله‌های حاوی رقت‌های تهیه شده عصاره قرار داده شد. بعد از مدت ۳ تا ۴ دقیقه پس از جذب کامل دیسک‌ها را در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد قرار داده، کاملاً خشک شده و جهت دیسک گذاری آماده شدند.

## نتایج

الگوی مهارکنندگی و کشندگی عصاره‌های مختلف گیاه صبر زرد علیه باکتری‌های *ویبریو کلرا* و *لیستریا مونوسایتوژنز* در جدول ۱ نشان داده شده است. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که عصاره آبی گیاه صبر زرد تنها بر روی *لیستریا مونوسایتوژنز* خاصیت کشندگی (حداقل ppm ۲۵) و مهاری (حداقل ppm ۱۲/۵) دارد و بر روی باکتری *ویبریو کلرا* هیچگونه اثری نداشته و در تمامی غلظت‌های عصاره آبی باکتری اخیر رشد نموده

www.SID.ir

Archive of SID


است. با توجه به رشد باکتری *ویبریو کلرا* و عدم رشد *لیستریا مونوسایتوژنز* در مجاورت عصاره آبی صبر زرد (با درجات متفاوتی از خاصیت مهارکنندگی و کشندگی عصاره آبی) می‌توان نتیجه‌گیری نمود که هیچ‌یک از متابولیت‌های ثانویه استخراج شده توسط حلال آب (عصاره آبی صبر زرد) بر عامل بیماری وبا موثر نیستند.

برای هر یک از عصاره‌های دیگر درجات مختلفی از مهارکنندگی و کشندگی علیه باکتری‌های *ویبریو کلرا* و *لیستریا مونوسایتوژنز* نشان داده شده است. برای هر دو باکتری مورد بررسی عصاره‌های اتانولی و اتیل استاته صبر زرد رفتار مشابهی نشان دادند؛ بطوری‌که عصاره-های آبی و اتیل استاته صبر زرد هر دو در غلظت ppm ۲۵ و ppm ۵۰ علیه به ترتیب *ویبریو کلرا* و *لیستریا مونوسایتوژنز* خاصیت مهاری نشان دادند. خاصیت کشندگی عصاره‌های اتانولی و اتیل استاته صبر زرد علیه باکتری *ویبریو کلرا* معادل ppm ۵۰ و علیه *لیستریا مونوسایتوژنز* معادل ppm ۱۰۰ بدست آمد. در میان شش عصاره مورد مطالعه بیشترین تاثیر کشندگی مربوط به عصاره کلروفورمی و به ترتیب ۲/۵ و ppm ۰/۶۲۵ علیه وبا و لیستریوز بود. به همین نسبت حداقل غلظت مهارکننده عصاره کلروفورمی صبر زرد علیه باکتری‌های *ویبریو کلرا* و *لیستریا مونوسایتوژنز* به ترتیب ۱/۲۵ و ppm ۰/۳۱۲ بود که در بین عصاره‌های مورد مطالعه بیشترین فعالیت مهاری را نشان داد. حداقل غلظت مهارکنندگی و کشندگی عصاره اتیل استات صبر زرد علیه *لیستریا مونوسایتوژنز* از عصاره آبی این گیاه نیز ضعیف‌تر بود (به ترتیب ۵۰ و ppm ۱۰۰).

**جدول ۱: الگوی مهارکنندگی/کشندگی غلظت‌های مختلف عصاره‌های صبر زرد علیه باکتری‌های *ویبریو کلرا* و *لیستریا مونوسایتوژنز***

| باکتری | عصاره | غلظت عصاره (ppm) | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | ۲۰۰ | ۱۰۰ | ۵۰ | ۲۵ | ۱۲/۵ | ۶/۲۵ | ۳/۱۳ | ۱/۵۶ | ۰/۷۸ | ۰/۳۹ |
| *ویبریو کلرا* | آبی | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ |
| | اتانولی | – | – | – | + | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ |
| | متانولی | – | – | – | – | – | + | ++ | ++ | ++ | ++ |
| | استونی | – | – | – | – | – | – | + | ++ | ++ | ++ |
| | کلروفورمی | – | – | – | – | – | – | – | + | ++ | ++ |
| | اتیل استات | – | – | – | + | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ |
| *لیستریا مونوسایتوژنز* | آبی | – | – | – | – | + | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ |
| | اتانولی | – | – | + | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ |
| | متانولی | – | + | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ |
| | استونی | – | – | – | – | – | – | – | – | + | ++ |
| | کلروفورمی | – | – | – | – | – | – | – | – | – | + |
| | اتیل استات | – | – | + | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ |

++ رشد کامل؛ + حداقل غلظت مهار کنندگی؛ و – حداقل غلظت کشندگی.

در جدول ۲ حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره‌های مختلف گیاه صبر زرد علیه باکتری‌های مورد مطالعه نشان داده شده است که کمترین غلظت (بیشترین خاصیت مهارکنندگی) مربوط به عصاره کلروفورمی و علیه باکتری لیستریا (ppm ۰/۳۱۲) و بیشترین غلظت (کمترین خاصیت مهارکنندگی) مربوط به عصاره متانولی صبر زرد علیه لیستریا بود (ppm ۱۰۰). چنانچه در جدول ۱ نیز نشان داده شده است، عصاره آبی صبر زرد هیچگونه اثر مهاری علیه عامل بیماری وبا نداشت. در جدول ۳ حداقل غلظت کشندگی عصاره‌های مختلف گیاه صبر زرد نشان داده شده است که در تمامی موارد غلظت‌های کشنده (جدول ۳) دو برابر غلظت‌های مهارکننده متناظر (جدول ۲) بود.

www.SID.ir

Archive of SID



**جدول۲: حداقل غلظت (ppm) مهارکنندگی (MIC) عصاره گیاه در برابر باکتری‌های مورد مطالعه**

| باکتری‌ها | آب | اتانول | متانول | استون | کلروفورم | اتیل استات |
|---|---|---|---|---|---|---|
| *ویبریو کلرا* | رشد | ۲۵ | ۶/۲۵ | ۳/۱۳ | ۱/۵۶ | ۲۵ |
| *لیستریا مونوسایتوژنز* | ۱۲/۵ | ۵۰ | ۱۰۰ | ۰/۷۸ | ۰/۳۹ | ۵۰ |

**جدول ۳: حداقل غلظت (ppm) کشندگی (MBC) عصاره‌های گیاه در برابر باکتری‌های مورد مطالعه**

| باکتری‌ها | آب | اتانول | متانول | استون | کلروفورم | اتیل استات |
|---|---|---|---|---|---|---|
| *ویبریو کلرا* | رشد | ۵۰ | ۱۲/۵ | ۶/۲۵ | ۳/۱۳ | ۵۰ |
| *لیستریا مونوسایتوژنز* | ۲۵ | ۱۰۰ | ۲۰۰ | ۱/۵۶ | ۰/۷۸ | ۱۰۰ |

قطر هاله مهاری (mm) عصاره‌های مختلف گیاه صبر زرد علیه *ویبریو کلرا* و *لیستریا مونوسایتوژنز* در جدول ۴ نشان داده شده است. کمترین قطر هاله مهاری مربوط به عصاره آبی صبر زرد و علیه باکتری *ویبریو کلرا* بود (صفر). بیشترین قطر هاله نیز مربوط به عصاره کلروفورمی صبر زرد علیه *لیستریا مونوسایتوژنز* بود که با نتایج مندرج در جداول ۱، ۲ و ۳ مطابقت داشت.

**جدول ٤: قطر هاله عدم رشد در عصاره‌های مختلف صبر زرد در بالاترین غلظت (ppm ۱۰۰) علیه باکتری‌های مورد بررسی**

| باکتری‌ها | آب | اتانول | متانول | استون | کلروفورم | اتیل استات |
|---|---|---|---|---|---|---|
| *ویبریو کلرا* | ۰ | ۴ | ۵ | ۵ | ۶ | ۴ |
| *لیستریا مونوسایتوژنز* | ۵ | ۳ | ۲ | ۶ | ۷ | ۴ |

## بحث

در برخی مطالعات، اثرات ایمنی‌زایی، التیام زخم و تحریک رشد توسط گیاه صبر زرد بر گونه‌های مختلف ماهی مورد بررسی قرار گرفته است (۱۴). در بررسی منابع گزارشی مبنی بر بررسی تاثیر ضد باکتری عصاره گیاه صبر زرد بر روی باکتری ویبزو کلرا بدست نیامد. با این وجود اثرات ضد باکاتریایی عصاره این گیاه بر روی باکتری‌های بیماری‌زای آبزیان مورد بررسی قرار گرفته است. در مطالعه‌ای برای بررسی اثر سطوح مختلف عصاره گیاه صبر زرد بر شاخص رشد و میزان مقاومت در برابر عفونت با باکتری *آئروموناس‌هایدروفیلا* (*Aeromonas hydrophila*) در ماهی سیکلید، نتایج نشان داد که تجویز میزان ۰/۵ و ۱ درصد عصاره خام صبر زرد باعث افزایش معنی‌دار در افزایش وزن، بهبود ضریب تبدیل غذایی و نرخ رشد ویژه می‌گردد؛ ولی خوراک حاوی ۰/۱ درصد عصاره صبر زرد موجب تفاوت معنی‌دار در فاکتورهای رشد مورد بررسی نشد. تلفات بعد از چالش با باکتری *آئروموناس‌هایدروفیلا* نیز در تیمارهای حاوی ۰/۵ و ۱ درصد عصاره صبر زرد کاهش معنی‌داری نسبت تیمار شاهد نشان داد ولی در تیمار ۰/۱ درصد تفاوت معنی-داری با گروه شاهد مشاهده نگردید (۱۵). بطورکلی بر اساس نتایج مطالعه اخیر مناسب‌ترین غلظت عصاره صبر زرد در خوراک ماهی برای تحریک رشد و افزایش مقاومت در برابر عفونت باکتریایی *آئروموناس‌هایدروفیلا* ۰/۵ درصد تعیین شد. در پژوهشی دیگر نیز تجویز میزان ۰/۵ درصد صبر زرد در خوراک ماهی کپور معمولی، افزایش مقاومت در برابر عفونت با باکتری *آئروموناس‌هایدروفیلا* گزارش شد (۱۶). هرچند در مطالعه حاضر به بررسی خواص ضدمیکروبی و مهارکنندگی عصاره‌های مختلف صبر زرد به صورت درون شیشه‌ای (*in vitro*) پرداخته شده

www.SID.ir

Archive of SID


است، اما مقایسه نتایج آزمایشات درون تنی (*in vivo*) نتایج مطالعه حاضر مبنی بر خواص ضد باکتریایی عصاره صبر زرد را تایید می‌نماید.

در مطالعه خواص ایمنی‌زایی علیه *آئروموناس هایدروفیلا* ناشی از مصرف خوراکی صبر زرد در ماهی pacu (*Piaractus mesopotamicus*) تحت استرس حمل و نقل نشان داده شد که هرچند حمل و نقل ماهی موجب سرکوب سیستم ایمنی می‌شود، اما مصرف صبر زرد تحریک‌کننده عملکرد سیستم ایمنی ذاتی نسبت به گروه شاهد بود (۱۷). همچنین در مطالعه عملکرد سیستم ایمنی صخره‌ماهی نشان داده شد که میزان ۵ گرم در کیلوگرم صبر زرد باعث افزایش مقاومت در برابر عفونت *ویبریو آلژینولیتیکوس* (*Vibrio alginolyticus*) شده است و میزان ۱ گرم صبر زرد در کیلوگرم خوراک، فاقد تاثیر روی مقاومت باکتری گزارش گردید (۱۸). پاسخ‌های ایمن بالاتر ماهیانی که با صبر زرد تیمار شده‌اند ممکن است به دلیل تحریک فعالیت لوکوسایت‌ها باشد؛ بطوری‌که در بررسی نقش صبر زرد بر عملکرد سیستم ایمنی ماهی فعالیت هوازی لوکوسایت‌ها افزایش یافته بود که بطور غیر مستقیم موید افزایش فعالیت لوکوسایت‌ها بود (۱۴). در مطالعه اخیر نشان داده شده که صبر زرد همچنین موجب کاهش احتمال عفونی‌شدن زخم و افزایش سرعت التیام زخم در ماهی شده است که علاوه بر خاصیت ضد میکروبی نشان‌دهنده خواص ضد التهابی صبر زرد نیز می‌باشد.

مکانیسم مهارکنندگی یا کشندگی اغلب گیاهان دارویی بر روی باکتری‌ها اغلب به دلیل تغییر در عملکرد غشاء، تغییر در ساختمان و ساختار غشاء، تغییر در pH داخلی باکتری و مهار سنتز ATP می‌باشد (۱۹). در یک مطالعه خواص و مکانیسم باکتری‌کشی عصاره‌های آبی، اتانولی و متانولی ریحان (*Ocimum basilicum* L.)، انجیر هندی (*Opuntia ficus-indica*)، اقاقیا (*Acacia farnesiana* L.) و درمنه (*Artemisia ludoviciana*) مورد بررسی قرار گرفت. عصاره هر چهار گیاه مورد بررسی موجب تخریب و افزایش نفوذپذیری غشاء به دلیل تخرب ساختار، هایپرپلاریزاسیون غشاء و اختلال در عملکرد طبیعی غشاء باکتری *ویبریو کلرا* شد. همچنین در مورد تمامی گیاهان افت قابل ملاحظه pH سیتوپلاسمی و کاهش محتوای ATP سلول مشاهده شد (۱۹). ترکیبات اصلی ضد میکروبی صبر زرد شامل اسید p–کوماریک (p – coumaric acid)، اسید اسکوربیک (ascorbic acid)، پیروکاتکول (pyrocatechol) و اسید سینامیک (cinnamic acid) می‌باشند (۲۰). دلیل تفاوت در خواص مهارکنندگی و کشندگی عصاره‌های مختلف صبر زرد در مطالعه حاضر می‌تواند ناشی از حلالیت متفاوت مواد موثره گیاه در حلال‌های مورد استفاده باشد. به عنوان نمونه به نظر می‌رسد مواد موثره گیاه که بتواند موجب توقف یا مهار رشد باکتری *ویبریو کلرا* شود در آب حل نمی‌شوند و به همین علت در تمامی غلظت‌های عصاره آبی صبر زرد رشد کامل باکتری مشاهده شد. در بررسی درون شیشه‌ای خواص ضد میکروبی صبر زرد نشان داده شد که تاثیر مهارکنندگی و کشندگی عصاره استونی صبر زرد علیه *استافیلوکوکوس آرئوس* (*Staphylococcus aureus*)، *استافیلوکوکوس پایوژنز* (*S. pyogenes*)، *سودوموناس آئروجینوزا* (*Pseudomonas aeruginosa*) و *اشرشیا کولای* (*Escherichia coli*) بیشتر از عصاره آبی و اتانولی می‌باشد (۲۱). در مطالعه حاضر نیز عصاره‌های استونی و کلروفورمی بیشترین خاصیت کشندگی و مهاری را بر روی باکتری‌های مورد مطالعه نشان دادند.

www.SID.ir

Archive of SID



در یک مطالعه حداقل غلظت مهارکننده و حداقل غلظت کشنده غلظت‌های مختلف عصاره آبی ژل گیاه صبر زرد علیه باکتری *لیستریا مونوسایتوژنز* مورد بررسی قرار گرفت (۲۲)، که نتایج نشان‌دهنده تاثیر معنی‌دار مهارکنندگی و کشندگی صبر زرد بود. در مطالعه مزبور حداقل غلظت مهارکننده عصاره صبر زرد ۱۰ درصد بدست آمد. در مطالعه حاضر غلظت مهارکننده عصاره آبی صبر زرد علیه باکتری *لیستریا مونوسایتوژنز* و همچنین حداقل غلظت کشنده آن به ترتیب ۲۵ و ppm ۵۰ بدست آمد. در مطالعه اثر عصاره‌های آبی و اتانولی صبر زرد روی باکتری‌های بیماری‌زای *استافیلوکوکوس آرئوس*، *اشرشیا کولای* و *لیستریا مونوسایتوژنز* بررسی کردند، نتایج نشان داد که عصاره اتانولی صبر زرد حداکثر فعالیت ضدباکتریایی را در مقابل باکتری *استافیلوکوکوس آرئوس* و *لیستریا مونوسایتوژنز* از خود نشان داد که حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره اتانولی در غلظت ۰/۱۳۲ میلی گرم بر میلی لیتر روی *استافیلوکوکوس آرئوس* و در غلظت ۰/۶۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر روی *لیستریا مونوسایتوژنز* بوده است (۲۳).

## نتیجه گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که عصاره صبر زرد با حلال-های مختلف خاصیت ضدمیکروبی بر روی پاتوژن‌های بیماری‌زای ماهی (*ویبریو کلرا* و *لیستریا مونوسایتوژنز*) دارد. هرچند استفاده از ترکیبات طبیعی برای ضدعفونی استخرهای پرورش آبزیان مرسوم نیست، اما با توجه به استفاده روزافزون از ضدعفونی‌کننده‌های شیمیایی برای گندزدایی استخرها و از طرفی استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها در تغذیه ماهیان پرورشی امکان باقی ماندن مواد شیمیایی ضدعفونی‌کننده و آنتی‌بیوتیک‌ها در گوشت ماهی و مصرف آن توسط انسان وجود دارد. با توجه به اینکه صبر زرد مصارف خوراکی برای انسان دارد و از طرفی نتایج مطالعه حاضر نشان داده است که عصاره صبر زرد در محیط آزمایشگاه خواص ضدمیکروبی مناسبی نیز دارد، لذا پیشنهاد می‌شود مطالعات درون‌تنی (*in vivo*) برای تایید این یافته‌ها به منظور از بین بردن باکتری‌ها و ضدعفونی استخرهای پرورش ماهیان پرورشی انجام شود.

## تقدیر و تشکر

این مقاله با حمایت مالی معاونت پژوهش و فناوری دانشگاه زابل به انجام رسیده است (شماره پژوهانه: UOZ-GR9618-167).

## منابع

1. Arfatahery, N., A. Davoodabadi, and T. Abedimohtasab, (2016). Characterization of toxin genes and antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus aureus* isolates in fishery products in Iran. *Scientific Report*, **6**: 34216.
2. Senderovich, Y., I. Izhaki, and M. Halpern, (2010). Fish as reservoirs and vectors of *Vibrio cholerae*. *PLoS One*, **5**: e8607.
3. Laviad-Shitrit, S., T. Lev-Ari, G. Katzir, Y. Sharaby, I. Izhaki, and M. Halpern, (2017). Great cormorants (*Phalacrocorax carbo*) as potential vectors for the dispersal of *Vibrio cholerae*. *Scientific Report*, **7**: 7973.
4. Halpern, M. and I. Izhaki, (2017). Fish as hosts of *Vibrio cholerae*. *Frontiers in Microbiology*, **8**: 282.
5. Mohamed, W., S. Sethi, S. Tchatalbachev, A. Darji, and T. Chakraborty, (2012). Protective immunity to *Listeria monocytogenes* infection mediated by recombinant *Listeria innocua* harboring the VGC locus. *PLoS One*, **7**: e35503.
6. van der Veen, S. and T. Abee, (2011). Generation of variants in *Listeria monocytogenes* continuous-flow biofilms is dependent on radical-induced DNA damage and RecA-mediated repair. *PLoS One*, **6**: e28590.
7. Rodas-Suarez, O.R., J.F. Flores-Pedroche, J.M. Betancourt-Rule, E.I. Quinones-Ramirez, and C. Vazquez-Salinas, (2006). Occurrence and antibiotic sensitivity of *Listeria monocytogenes* strains isolated

www.SID.ir

Archive of SID


from oysters, fish, and estuarine water. *Applied and Environmental Microbiology*, **72**: 7410-7412.

8. Chanda, M., M. Paul, J. Maity, G. Dash, and S.S. Gupta, (2011). The use of antibiotics and disinfectants in ornamental fish farms of West Bengal, India. *Journal of Natural Science, Biology and Medicine*, **2**: 139-140.
9. Samoilova, Z., G. Smirnova, N. Muzyka, and O. Oktyabrsky, (2014). Medicinal plant extracts variously modulate susceptibility of *Escherichia coli* to different antibiotics. *Microbiology Research*, **169**: 307-313.
10. Aumeeruddy-Elalfi, Z., A. Gurib-Fakim, and F. Mahomoodally, (2015). Antimicrobial, antibiotic potentiating activity and phytochemical profile of essential oils from exotic and endemic medicinal plants of Mauritius. *Industrial Crops and Products*, **71**: 197-204.
11. Eshun, K. and Q. He, (2004). *Aloe vera*: a valuable ingredient for the food, pharmaceutical and cosmetic industries--a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, **44**: 91-96.
12. Guo, X. and N. Mei, (2016). *Aloe vera*: A review of toxicity and adverse clinical effects. *Journal of Environmental Science and Health*, **34**: 77-96.
13. Akinsanya, M.A., J.K. Goh, S.P. Lim, and A.S. Ting, (2015). Diversity, antimicrobial and antioxidant activities of culturable bacterial endophyte communities in *Aloe vera*. *FEMS Microbiology Letters*, **362**: 184.
14. Zanuzzo, F.S., S.F. Zaiden, J.A. Senhorini, C.M. Marzocchi-Machado, and E.C. Urbinati, (2015). *Aloe vera* bathing improved physical and humoral protection in breeding stock after induced spawning in matrinxa (*Brycon amazonicus*). *Fish and Shellfish Immunology*, **45**: 132-140.
15. May, A., (2010). Effects of crude extracts of *Aloe vera* on growth and resistance to infection with the bacterium *Aeromonas hydrophila* fish cichlids (*Amphiophus labiatus*). *Journal of Marine Biology*, **8**: 2.
16. Alishahi, M., M. Ranjbar, M. Ghorbanpour, R. Peyghan, M. Mesbah, and M. Razi jalal, (2010). Effects of dietary *Aloe vera* on specific and nonspecific immunity of Common carp (*Cyprinus carpio*). *Journal of Veterinary Research*, **4**: 85-91.
17. Zanuzzo, F.S., R.E. Sabioni, L.N.F. Montoya, G. Favero, and E.C. Urbinati, (2017). *Aloe vera* enhances the innate immune response of pacu (Piaractus mesopotamicus) after transport stress and combined heat killed Aeromonas hydrophila infection. *Fish Shellfish Immunology*, **65**: 198-205.
18. Kim, H.K., W.J. Hwang, and S.C. Bai, (1999). Resistance to Vibrio alginolyticus in juvenile rockfish Sebastes schlegeli fed diets containing different doses of *Aloe vera*. *Aquaculture*, **180**: 13-21.
19. Sanchez, E., S. Garcia, and N. Heredia, (2010). Extracts of edible and medicinal plants damage membranes of *Vibrio cholerae*. *Applied and Environmental Microbiology*, **76**: 6888-6894.
20. Lawrence, R., P. Tripathi, and E. Jeyakumar, (2009). Isolation, Purification and Evaluation of Antibacterial Agents from *Aloe vera*. *Brazilian Journal of Microbiology*, **40**: 906-915.
21. Nejatzadeh-Barandozi, F., (2013). Antibacterial activities and antioxidant capacity of *Aloe vera*. *Organic and Medicinal Chemistry Letters*, **3**: 5.
22. Ramirez Merida, L.G., A. Moron de Salim , R. Catinella, and L. Castillo, (2012). Bacteriostatic and/or bactericidal extract of *Aloe vera* gel on cultures of *Listeria monocytogenes*. *Archivos Latinoamericanos de Nutricion*, **62**: 73-78.
23. Shamlou, M. and M. Yavarmanesh, (2015). Evaluation of the antibacterial effects of aqueous and ethanolic extracts of *Aloe Vera* on pathogenic bacteria (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*). *Food Science and Technology*, **55**: 149-159.

www.SID.ir

Archive of SID

Journal of Veterinary Microbiology, Volume 15, Issue 1, 2019

# Evaluation of antibacterial effects of *Aloe vera* extracts against *Vibrio cholerae* and *Listeria monocytogenes*

**Rigi, M.[1], Saeidi, S.[2], Maghsoudi, A.[3], Bazzi, S.[4]**

*1- Master of Science in Hamoun International Wetland Research Institute, University of Zabol, Zabol, Iran*
*2- Master of Science in Research Center of Agricultural Biotechnology, University of Zabol, Zabol, Iran*
*3- Assistant Professor in Department of Animal Science, Faculty of Agriculture; Department of Bioinformatics; Research Center of Agricultural Biotechnology, University of Zabol, Zabol, Iran*
*4- Master of Science in Department of Biology, Faculty of Science, Payame Noor University, Zabol, Iran*

*Received: 13 April 2018 Accepted: 27 August 2018*

***Abstract***

*The aim of the present study was to evaluate the antimicrobial effects of aqueous, ethanol, methanol, acetone, chloroform and ethyl acetate extracts of Aloe vera leaves on two fish infectious bacteria, Vibrio cholerae and Listeria monocytogenes. The Aloe vera extracts obtained through rotary apparatus and V. cholerae and L. monocytogenes provided from Iranian fungi and bacterial collection. Minimum bactericidal concentration (MBC) and minimum inhibitory concentration (MIC) of the extracts were determined using dilution in well method. Moreover, the diameters of inhibition zones was determined through disk diffusion method. Results of this study showed while aqueous extract of Aloe vera had inhibitory and lethal effects on L. monocytogenes, but have no influence on V. cholerae. The most inhibitory and lethal characteristics of studied extracts on both bacteria was due to chloroform solvent, while had more influence on L. monocytogenes. Chloroform extract tend its inhibitory property even in the most diluted form. Like inhibitory properties, the biggest diameters of inhibition zones was from chloroform extract against L. monocytogenes. Acording to edibility of Aloe vera, its availability and reasonable value, it is possible to use Aloe vera as an alternative for conventional antibiotics and chemical disinfectants in aquaculture rearing pools.*

***Keywords**: **Fish breeding, Bactericidal effect, Aloe vera, Vibrio cholerae, Listeria monocytogenes***

*Corresponding Author: Maghsoudi, A.*
*Address: Department of Animal Science, Faculty of Agriculture; Department of Bioinformatics; Research Center of Agricultural Biotechnology, University of Zabol, Zabol, Iran*
*Email: Alimaghsoudi@uoz.ac.ir*

www.SID.ir