مقایسه اثر ضد باکتریایی عصاره گیاه کرفس کوهی (*Kelussia odoratissima*) با آنتی‌بیوتیک‌های رایج مصرفی در پرورش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

اسماعیل پیر علی خیر آبادی*[1]، زهرا سلطانی نژاد [1]، امین نعمت اللهی[2]، فرزانه نیکو خواه[1]

۱- گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی ، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران، صندوق پستی:۱۱۵

۲- گروه بهداشت وبیماری‌ها، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران، صندوق پستی:۱۱۵

تاریخ دریافت: ۱۱ بهمن ۱۳۹۶ تاریخ پذیرش: ۱۸ خرداد ۱۳۹۷

چکیده

گیاهان به دلیل عوارض جانبی کمتر می‌توانند به‌عنوان یک جانشین مناسب داروهای شیمیایی ازجمله آنتی‌بیوتیک‌ها در نظر گرفته شوند باشند. گیاه کرفس کوهی یکی از گیاهان تغذیه‌ای، مرتعی و بومی ایران همراه با اثرات ضد باکتریایی است. مطالعه حاضر باهدف مقایسه اثر ضد باکتریایی عصاره اتانولی گیاه کرفس کوهی با آنتی‌بیوتیک‌های اریترومایسین و آنروفلوکساسین علیه ۴ جدایه *استرپتوکوکوس اینیایی* جداسازی شده از ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان انجام شد. بدین منظور ابتدا تیمارها با سه تکرار در غلظت‌های مختلف ۱۰۰، ۵۰، ۲۵، ۱۲/۵ و ۶/۲۵ میکروگرم بر میکرو لیتر عصاره طراحی گردید. سپس برای تعیین قدرت ضد باکتریایی عصاره‌ها از روش چاهک گذاری (Well Diffusion) استفاده گردید و با قرار دادن دیسک‌های آنتی‌بیوتیک اریترومایسین و آنروفلوکساسین در محیط کشت مولر هینتون حاوی باکتری قطر هاله عدم رشد باکتری اندازه‌گیری شد. اطلاعات جمع‌آوری‌شده با استفاده از آزمون‌های آنالیز واریانس یک‌طرفه و در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ ≥p مورد تجزیه‌وتحلیل آماری قرار گرفتند. نتایج مطالعه نشان داد که عصاره اتانولی کرفس کوهی در غلظت‌های ۶/۲۵ و ۱۲/۵ میکروگرم بر میکرو لیتر هیچ اثری بر باکتری‌های موردمطالعه نداشت. همچنین در باکتری‌های ۳ و ۴ علاوه بر غلظت‌های ۶/۲۵ و ۱۲/۵ در غلظت‌های ۲۵ میکروگرم بر میکرو لیتر عصاره کرفس نیز هاله عدم رشد مشاهده نشد. بیشترین قطر هاله عدم رشد به ترتیب در باکتری‌های ۱، ۲، ۴، ۳ با میانگین قطر هاله عدم رشد، ۱۹/۳۳، ۱۹/۳۳، ۱۸/۶۷ و ۱۵/۳۳ میلی‌متر اندازه‌گیری شد که اختلاف معناداری رابین غلظت‌های مختلف نشان داد (P <۰/۰۵).

کلمات کلیدی: آنتی‌بیوتیک، قزل‌آلای رنگین‌کمان، استرپتوکوکوزیس، کرفس کوهی.

* عهده‌دار مکاتبات (✉). esmaeil_pirali@yahoo.com

Archive of SID

www.SID.ir

مقدمه

توسعه روزافزون تکثیر و پرورش ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان باعث افزایش بروز بیماری‌های مختلف، ازجمله بیماری‌های باکتریایی شده است. دراین‌بین آلودگی به استرپتوکوکوزیس در سطح وسیعی از جهان گزارش‌شده است و بیماری استرپتوکوکوزیس ناشی از *استرپتوکوکوس اینیایی* سبب بروز خسارات اقتصادی فراوان به صنعت آبزی‌پروری در سراسر جهان ازجمله ایران گردیده است (Soltani *et al*., 2005؛ Soltani *et al*., 2008). به‌طوری‌که تاکنون استرپتوکوکوزیس در ۲۷ گونه ماهیان آب شیرین، آب‌شور و لب‌شور گزارش‌شده و نیز به‌عنوان پاتوژن زئونوز سبب بروز عفونت استرپتوکوکی در انسان می‌شود (Agnew and Barnes, 2007). مصرف بی‌رویه آنتی‌بیوتیک‌ها برای درمان بیماری منجر به بروز مقاومت آنتی‌بیوتیکی در جدایه‌های باکتریایی و کاهش اثرگذاری داروها، تجمع آنتی‌بیوتیک در عضلات ماهی و درنتیجه به مخاطره انداختن سلامت مصرف‌کنندگان ماهی شده است، لذا یافتن راه‌های پیشگیری برای به حداقل رساندن خسارات اقتصادی ناشی از تلفات در مزارع پرورش ماهی و نیز کاهش مشکلات زیست‌محیطی ناشی از مصرف گسترده آنتی‌بیوتیک‌ها ضروری به نظر می‌رسد (Shahrani *et al*., 2014). از یک دهه قبل تاکنون استفاده از دارو-های گیاهی به‌عنوان داروهای دوستدار محیط‌زیست برای مقابله با باکتری‌های بیماری‌زا موردتوجه قرارگرفته است (Abutbul *et al*., 200). کرفس کوهی (*Kelussia odoratissima*) بانام محلی کلوس به‌عنوان گونه‌ای جدید از جنس کلوسیا[1] از تیره چتریان[2]، یکی از گیاهان تغذیه‌ای، مرتعی و بومی ایران بوده و تاکنون وجود آن در سایر مناطق جهان گزارش نشده است. کرفس کوهی در منابع مختلف گذشته بانام‌های علمی *Amircabiria odoratiaaima, Apium graveolens, Opopanax* نام‌گذاری گردیده است. در طب سنتی برای اندام‌های هوایی گیاه کرفس کوهی خواصی همچون ضدالتهاب، ضد درد، درمان روماتیسم، تصفیه خون و برای بذر و ریشه آن به‌صورت جوشانده خواصی برای درمان سرماخوردگی و سرفه‌های شدید قائل هستند. همچنین اثرات ضد حساسیت، محافظت‌کننده عروق، ضد انعقادی و محافظ دستگاه گوارش، ضد دیابت، آنتی پراکسیداسیون لیپیدها و ضد سرطان آن نیز مشخص‌شده است(Heidari Sureshjani *et al*., 2014.; Ghasemi Pirbalouti *et al*., 2010) اثرات ضد باکتریایی اسانس و عصاره ۱۰ گونه گیاهی منحصربه‌فرد ایرانی ازجمله کرفس کوهی را بر روی باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس*[3]، *سودوموناس آئروژینوزا*[4]، *کلبسیلا پنومونیه*[5]، *اشرشیا کلای*[6] موردبررسی قراردادند. نتایج آن‌ها حاکی از آن بود که اکثر اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهان موردمطالعه اثرات آنتی باکتریال بالایی با قطر بازداری ۸ تا ۲۳ میلی‌متر در مقابل باکتری‌های مورد آزمایش داشتند. مشرقی و همکاران (۱۳۹۳) با بررسی اثرات ضد باکتریایی اسانس کرفس کوهی و کلپوره علیه برخی پاتوژن‌های مواد غذایی، بیان کردند که از این گیاهان می‌توان در راستای کنترل مؤثر پاتوژن‌های مواد غذایی به‌عنوان

[1] Kelussia

[2] Apiaceae
[3] *Staphylococcus aureu*
[4] *Pseudomonas aeruginosa*
[5] *Klebsiella pneumonia*
[6] *Escherichia col*

Archive of SID
www.SID.ir

یک روش مکمل استفاده کرد. با توجه به اهمیت روزافزون گیاهان دارویی به‌عنوان جایگزین آنتی‌بیوتیک، وجود ترکیبات فعال زیستی موجود در گیاه گرفس کوهی همچون فتالیدها و فلاوونوئیدها (سعیدی و امید بیگی، ۱۳۸۸؛ سلیمی و همکاران، ۱۳۸۹؛ مشرقی و همکاران، ۱۳۹۳) و وجود این گیاه در استان چهارمحال بختیاری، مطالعه حاضر باهدف مقایسه اثرات ضد باکتریایی عصاره اتانولی کرفس کوهی روی باکتری استرپتوکوکوس اینیایی به‌عنوان یکی از عوامل پاتوژن مشترک بین انسان و حیوان با آنتی‌بیوتیک‌های رایج اریترومایسین و آنروفلوکساسین انجام شد.

مواد و روش‌ها

۱. تهیه و آماده‌سازی عصاره‌های گیاهی

گیاه کرفس کوهی در ابتدای دوره رویشی (اردیبهشت‌ماه سال ۹۴) از ارتفاعات شهرستان الیگودرز واقع در استان لرستان جمع‌آوری و برگ‌ها پس از تمیز شدن در شرایط مناسب در سایه‌خشک و توسط آسیاب آزمایشگاهی مدل[1] وارنینگ پودر گردید. مقدار ۵۰ گرم از برگ‌های پودر شده گیاه جهت تهیه عصاری اتانولی به ارلن حاوی ۲۵۰ میلی‌لیتر اتانول ۹۶ درجه اضافه گردید و ارلن به مدت ۷۲ ساعت در داخل آون قرار داده شد تا استخراج عصاره به‌طور کامل انجام گیرد، سپس مخلوط حلال و گیاه توسط صافی از هم جدا شد، عصاره صاف‌شده توسط دستگاه تقطیر در خلأ[2] تقطیر گردید. عصاره را در پلیت‌های استریل ریخته و سپس دهانه پلیت‌ها توسط پارافیلم پوشیده شد.

[1] Waring
[2] Rotary evap-rator

جهت اطمینان از استریل بودن عصاره از محیط کشت نوترینت آگار برای کشت و بررسی میکروبی عصاره استفاده شد. درنهایت نسبت به تهیه پنج غلظت ۱۰۰، ۵۰، ۲۵/۵، ۱۲/۵، ۶ میکروگرم بر میکرو لیتر از عصاره به‌منظور مقایسه عملکرد اقدام گردید (قادری و همکاران، ۱۳۸۳).

۲. بررسی قدرت ضد باکتریایی عصاره‌های گیاهی به روش انتشار از چاهک

برای انجام مطالعات خواص ضد باکتریایی عصاره‌های گیاهی از ۴ جدایه باکتری استرپتوکوکوس اینیایی استفاده شد. برای این منظور از جدایه‌های لیوفیلیزه استرپتوکوکوس اینیایی که به روش مولکولی PCR از ماهیان مبتلابه بیماری استرپتوکوکوزیس که در مطالعات فبلی سلطانی و همکاران (۲۰۰۵ و ۲۰۰۸) جداسازی و شناسایی‌شده بود استفاده گردید (جدایه های ۱، ۲، ۳ و ۴). به‌منظور بررسی اثرات ضد باکتریایی عصاره‌ی اتانولی کرفس کوهی از روش چاهک گذاری[3] استفاده شد (Magaldi *et al.*, 2004)، به این منظور از کلنی باکتری کشت‌شده در محیط کشت ژلوز خوندار برداشت و با محتوی لوله‌آزمایش استریل حاوی ۵ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی استریل کاملاً مخلوط شد تا سوسپانسیون یکنواختی از باکتری موردنظر با کدورتی مشابه لوله استاندارد ۰/۵ مک فارلند به دست آید. سپس توسط سواپ استریل از لوله حاوی سوسپانسیون باکتری، مقداری را برداشته روی پلیت حاوی محیط کشت مولر هینتون آگار (مرک، آلمان) کشت داده شد. سپس توسط پیپت پاستور استریل چاهک‌هایی به قطر ۵ میلی‌متر بافاصله‌های مناسب ایجاد کرده و توسط

[3] Well Diffiusion

Archive of SID
www.SID.ir

سمپلر مقدار ۵۰ میکرو لیتر از هر غلظت مشخص (۱۰۰، ۵۰، ۲۵/۲۵،۱۲/۶،۵ میکروگرم بر میکرو لیتر) برداشته و در شرایط استاندار تلقیح صورت گردید؛ سپس فرصت داده شد تا عصاره کاملاً جذب شود. درنهایت پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در گرمخانه ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و هاله عدم رشد اطراف توسط خط کش فلزی با دقت ۱ میلی‌متر اندازه‌گیری شد. در این مطالعه از دیسک اریترومایسین (۱۵ میکروگرم) برای کنترل مثبت و ۵۰ میکرو لیتر دی متیل سولفوکساید[1] ٪۴ به‌عنوان کنترل منفی استفاده شد.

۳. آزمایش آنتی بیوگرام

به‌منظور ارزیابی میزان حساسیت باکتری استرپتوکوکوس اینیایی، از آنتی‌بیوتیک‌های اریترومایسین (۱۵ میکروگرم) وآنروفلوکساسین (۱۰ میکروگرم) استفاده شد. آزمایش آنتی بیوگرام به روش دیسک و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد انجام گرفت و نتایج حاصله (اندازه‌گیری قطر ممانعت کنندگی) پس از ۲۴ ساعت از کشت قرائت شد(Soltani *et al.*, 2015; Bonev *et al.*, 2008). آنتی بیوگرام با دیسک‌ها برای هر آنتی‌بیوتیک ۳ مرتبه تکرار شد. در این مطالعه به مواردی که میزان هاله عدم رشد ناشی از آنروفلوکسازین کمتر یا مساوی ۱۲ میلی‌متر و میزان هاله عدم رشد ناشی از اریترومایسین کمتر یا مساوی ۱۳ میلی‌متر بود، "مقاوم" و به مواردی که میزان هاله عدم رشد ناشی از آنروفلوکسازین ۱۳-۱۶ میلی‌متر و میزان هاله عدم رشد ناشی از اریترومایسین ۲۲-۱۴ میلی‌متر بود "نیمه حساس" و به مواردی که میزان هاله عدم رشد ناشی از آنروفلوکسازین بیشتر یا مساوی ۱۷ میلی‌متر و میزان هاله عدم رشد ناشی از اریترومایسین بیشتر یا مساوی ۲۳ میلی‌متر بود "حساس" اطلاق گردید (Wistreich, 1997).

به‌منظور تجزیه‌وتحلیل داده‌ها از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۱۶ استفاده گردید. داده‌های حاصل از تأثیر ۵ سطح متفاوت غلظت عصاره‌های اتانولی بر باکتری‌های موردبررسی با سه تکرار، با استفاده از تجزیه واریانس یک‌طرفه (one-way ANOVA) مورد تجزیه‌وتحلیل قرار گرفت. همچنین، برای انجام مقایسه زوج میانگین‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن (Duncan) در سطح معنی‌داری P<۰/۰۵ استفاده شد.

نتایج

مطابق جدول ۱ عصاره اتانولی کرفس کوهی در غلظت‌های ۶/۲۵ و ۱۲/۵ میکروگرم بر میکرو لیتر هیچ اثری بر باکتری‌های موردمطالعه نداشت. همچنین در باکتری‌های ۳ و ۴ علاوه بر غلظت‌های ۶/۲۵ و ۱۲/۵ در غلظت‌های ۲۵ میکروگرم بر میکرو لیتر عصاره کرفس نیز هاله عدم رشد مشاهده نشد. بیشترین قطر هاله عدم رشد به ترتیب در باکتری‌های ۱، ۲، ۴، ۳ با میانگین قطر هاله عدم رشد، ۱۹,۳۳، ۱۹,۳۳، ۱۸,۶۷ و ۱۵,۳۳ میلی‌متر اندازه‌گیری شد که اختلاف معناداری بین غلظت-های مختلف ثبت گردید (P <۰/۰۵). طبق نتایج جدول ۲ میانگین قطر هاله عدم رشد باکتری‌های ۲ و ۳ و ۴ در حضور آنروفلوکسازین به ترتیب ۰، ۷/۶۷ و ۹/۳۳ میلی‌متر بوده و این سه جدایه به آنروفلوکسازین مقاوم بودند. علاوه بر این جدایه ۱ با میانگین ۱۳,۳۳ میلی‌متر نسبت به آنروفلوکسازین نیمه حساس بود. در ارتباط با آنتی‌بیوتیک اریترومایسین میانگین قطر هاله

[1] DMSO

Archive of SID
www.SID.ir

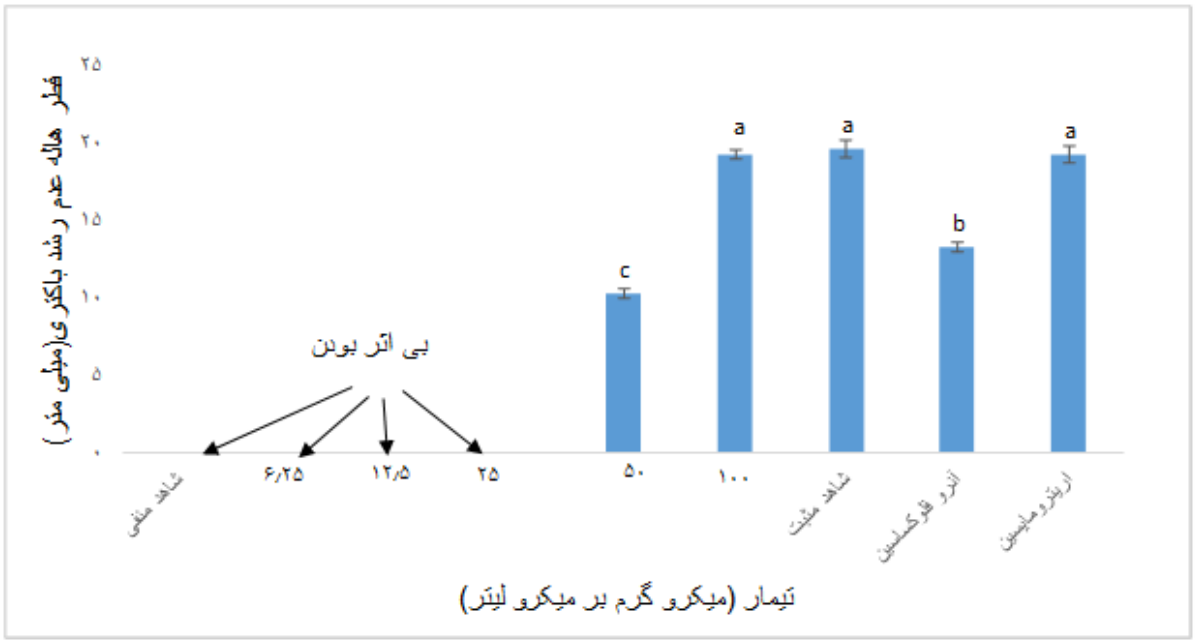
عـدم رشـد جدایـه‌هـای ۱،۲،۳ و ۴ بـه ترتیـب ۹/۳۳، ۲۱/۳۳، ۱۸/۶۷ و ۱۷/۶۷ میلی‌متر ثبت گردیـد و تمـامی جدایه‌هـا نسـبت بـه اریترومایسـین نیمـه حسـاس بودنـد. مطابق با شکل‌های ۱ تا ۴ در مقایسه اثر ضـد باکتریـایی، در تمـام جدایـه‌هـا عصـاره اتـانولی کـرفس کـوهی در غلظت‌های ۱۰۰ و ۵۰ میکروگرم بـر میکـرو لیتـر ازنظـر قطر هالـه عـدم رشـد بـاکتری تفـاوت معنـی‌داری بـاهم داشتند ($P<۰/۰۵$).

جدول ۱: میانگین قطر هاله عدم رشد ۴ جدایه *استرپتوکوکوس اینیایی* (میلی‌متر) در حضور عصاره اتانولی برگ کرفس کوهی (با روش چاهک گذاری)

غلظت عصاره اتانولی برگ کرفس کوهی (میکروگرم بر میکرو لیتر)								نوع باکتری	نوع عصاره
کنترل مثبت	کنترل منفی	۶/۲۵	۱۲/۵	۲۵	۵۰	۱۰۰			
۱۹/۶۷±۰/۳۳^{a}	–	–	–	۱۰/۳۳±۰/۳۳^{c}	۱۴/۳۳±۰/۳۳^{b}	۱۹/۳۳±۰/۳۳^{a}		۱	اتانولی
۱۵/۶۷±۰/۳۳^{b}	–	–	–	۹/۶۷±۰/۶۶^{c}	۱۴/۶۷±۰/۳۳^{b}	۱۹/۳۳±۰/۳۳^{a}		۲	اتانولی
۱۵^{b}	–	–	–	–	۱۱^{c}	۱۵/۳۳±۰/۳۳^{a}		۳	اتانولی
۱۵^{b}	–	–	–	–	۱۱/۶۷±۰/۳۳^{c}	۱۸/۶۷±۰/۶۶^{a}		۴	اتانولی

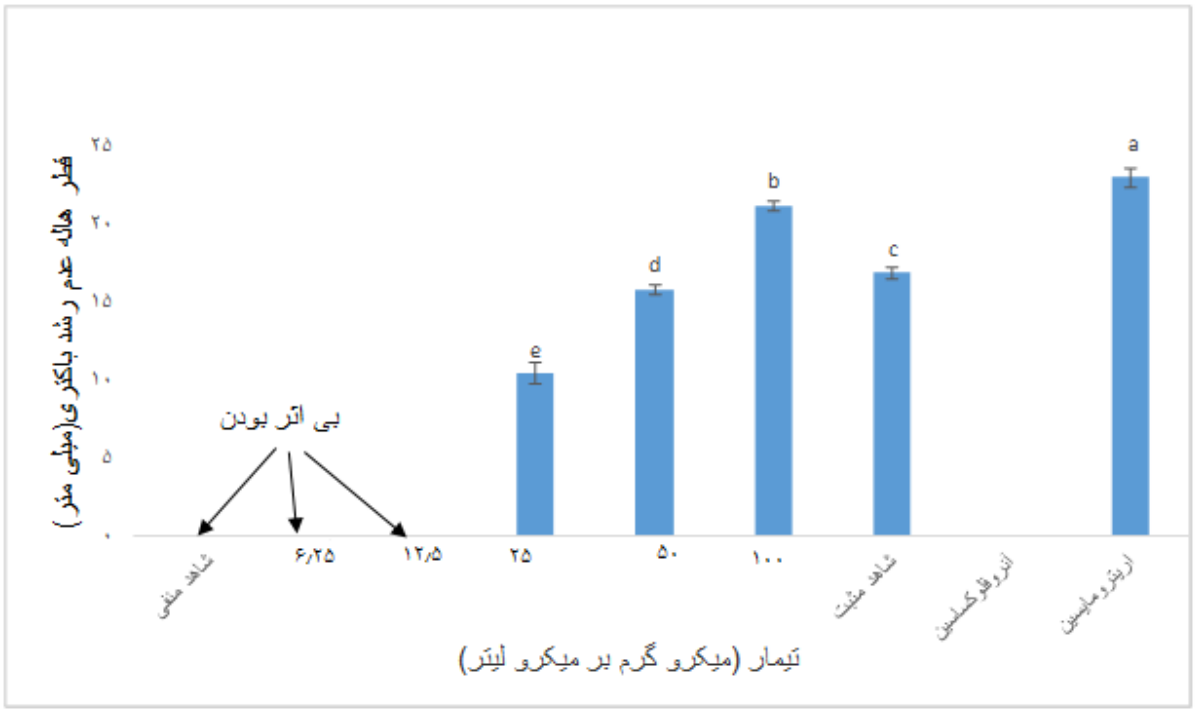
کنترل منفی:DMSO

کنترل مثبت: اریترومایسین

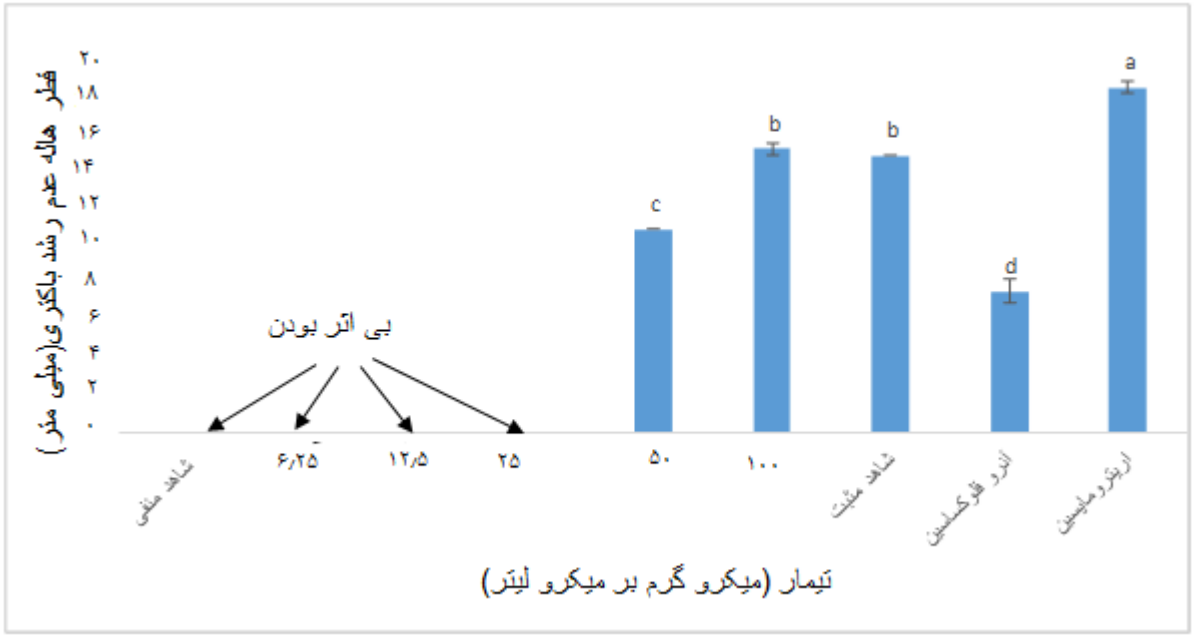


شکل ۱: مقایسه اثر ضد باکتریایی عصاره اتانولی برگ کرفس کوهی با آنتی‌بیوتیک‌های آنروفلوکساسین و اریترومایسین علیه جدایه ۱

www.SID.ir

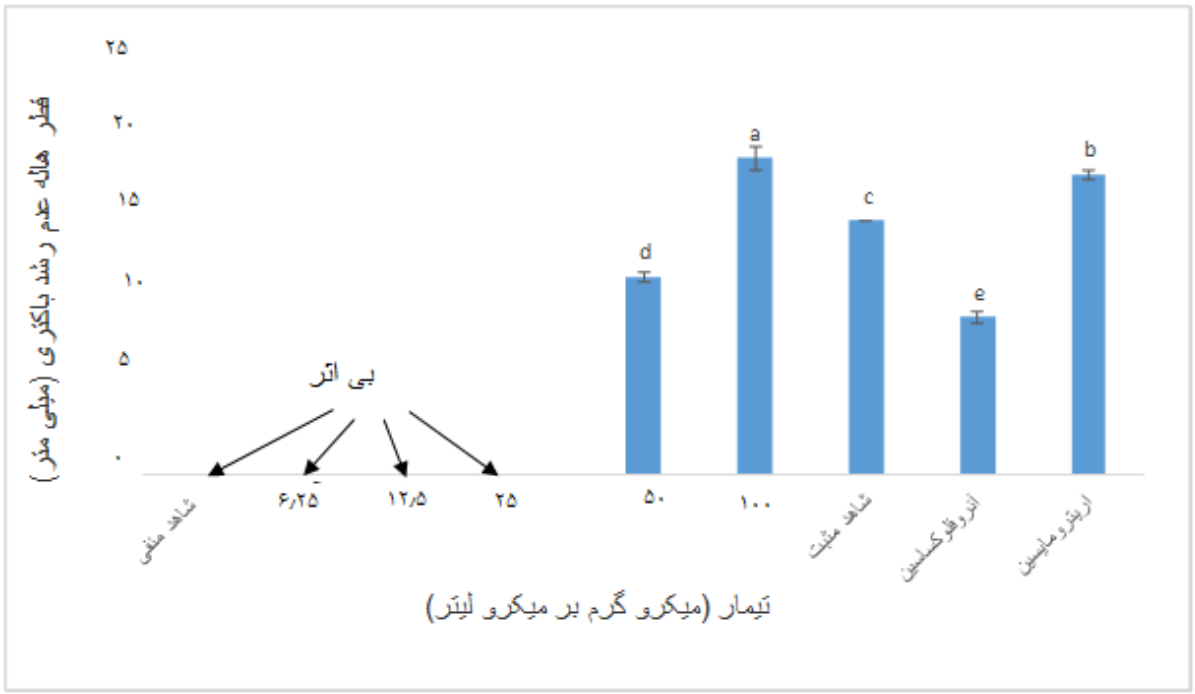


شکل ۲: مقایسه اثر ضد باکتریایی عصاره اتانولی برگ کرفس کوهی با آنتی‌بیوتیک‌های آنروفلوکساسین و اریترومایسین علیه جدایه ۲



شکل۳: مقایسه اثر ضد باکتریایی عصاره اتانولی برگ کرفس کوهی با آنتی‌بیوتیک‌های آنروفلوکساسین و اریترومایسین علیه جدایه۳

www.SID.ir



شکل ۴: مقایسه اثر ضد باکتریایی عصاره اتانولی برگ کرفس کوهی با آنتی‌بیوتیک‌های آنروفلوکساسین و اریترومایسین علیه جدایه۴

جدول ۲: میانگین قطر هاله عدم رشد ۴ جدایه استرپتوکوکوس اینیایی برحسب میلی‌متر در حضور آنتی‌بیوتیک‌های آنروفلوکسازین و استرپتومایسین (با روش دیسک گذاری)

نوع باکتری	نوع آنتی‌بیوتیک	حساس	نیمه حساس	مقاوم
۱	آنروفلوکسازین	–	۱۳/۳۳	-
	اریترومایسین		۱۹/۳۳	
۲	آنروفلوکسازین	-	-	۰
	اریترومایسین		۲۱/۳۳	
۳	آنروفلوکسازین	-	-	۷/۶۷
	اریترومایسین		۱۸/۶۷	
۴	آنروفلوکسازین	-	-	۹/۳۳
	اریترومایسین		۱۷/۶۷	

-: نشان‌دهنده عدم مهارکنندگی باکتری

بحث

مطالعه حاضر به‌منظور مقایسه اثر ضد باکتریایی عصاره اتانولی گیاه کرفس کوهی با آنتی‌بیوتیک‌های رایج مورداستفاده صورت گرفته است. نتایج مطالعه بیانگر این است که عصاره اتانولی کرفس کوهی بعد از ۲۰ ساعت در غلظت‌های ۶/۲۵، ۱۲/۵ میکروگرم بر میکرو لیتر اثر بازدارنده‌ای را در برابر رشد جدایه‌های ۱ و ۲ استرپتوکوکوس اینیایی در محیط کشت نشان ندادند اما در غلظت‌های ۱۰۰، ۵۰ و ۲۵ میکروگرم بر میکرو لیتر سبب مهار رشد جدایه‌های مذکور گردید.

Archive of SID
www.SID.ir

عصاره تهیه‌شده در غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میکروگرم بر میکرو لیتر در جدایه‌های ۳ و ۴ سبب مهار رشد باکتری‌ها شدند. بیشترین اثر مهارکنندگی عصاره‌ها در غلظت‌های ۱۰۰ میکروگرم بر میکرو لیتر در دو جدایه ۱ و ۲ با میانگین قطر هاله ۱۹/۳۳ میلی‌متر به دست آمد. Ghasemi Pirbalouti و همکاران (۲۰۱۰) اثرات ضد باکتریایی اسانس و عصاره ۱۰ گونه گیاهی منحصربه‌فرد ایرانی ازجمله کرفس کوهی را بر روی باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس*، *سودوموناس آئروژینوزا*، *کلبسیلا پنومونیه*، *اشرشیا کلای* را موردبررسی قراردادند. نتایج آن‌ها حاکی از آن بود که اسانس و عصاره کرفس کوهی در غلظت ۱۰۰ میکروگرم اثرات آنتی باکتریال بالایی با قطر بازداری ۹ تا ۱۷ میلی‌متر در مقابل باکتری‌های مورد آزمایش داشتند.

بین اثر بازدارندگی غلظت‌های مختلف عصاره اتانولی به کار گرفته‌شده در آزمایش و شاهد ازنظر هاله‌های عدم رشد باکتری، اختلاف معنی‌داری وجود داشته است. همچنین بین غلظت‌های ۱۰۰ و ۵۰ میکروگرم بر میکرو لیتر عصاره اتانولی کرفس نسبت به آنروفلوکسازین ازنظر قطر هاله عدم رشد باکتری تفاوت معنی‌داری وجود داشت. نتایج حاصل از این مطالعه نشان می‌دهد با افزایش غلظت عصاره اتانولی برگ کرفس کوهی هاله بازدارندگی سطح افزایش‌یافته که نشان می‌دهد فعالیت بازدارندگی عصاره اتانولی این گیاه فعالیتی وابسته به غلظت است و با افزایش غلظت عصاره، قطر هاله بازدارندگی نیز افزایش می‌یابد. حیدری Heidari Sureshjani و همکاران (2014) با بررسی اثر مهارکنندگی و کشندگی عصاره‌های آبی و اتانولی کرفس کوهی بر *اشرشیا کلای*، *باسیلوس سرئوس*[1]، *لیستریا*[2] در شرایط آزمایشگاهی نشان دادند که با افزایش غلظت عصاره اتانولی قطر هاله عدم رشد به‌طور معنی‌داری افزایش می‌کند که نتایج آن‌ها با نتایج مطالعه حاضر هم سویی دارد. در مطالعه Shahrani و همکاران (2014)، آلودگی بیش از ۷۶ درصد مزارع پرورش ماهی استان چهارمحال بختیاری بررسی شد و نتایج نشان‌دهنده مقاومت چندگانه همه جدایه‌ها به آنتی‌بیوتیک‌های رایج بود. حداقل و حداکثر مقاومت دارویی در مورد آنتی‌بیوتیک‌های جنتامایسین و آنروفلوکسازین به ترتیب ۳۰/۷ و ۶۵/۴ درصد بود که این نتایج با یافته‌های ما همخوانی دارد. Cabello و همکاران (۲۰۱۳) با مروری بر مطالعات صورت گرفته در رابطه با آنتی‌بیوتیک‌های مورداستفاده در آبزی‌پروری و مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایجادشده در آبزیان و مصرف‌کنندگان آبزیان بیان کردند که کلیه مطالعات صورت گرفته در این رابطه بیانگر مقاومت باکتری‌ها به آنتی‌بیوتیک‌های مورداستفاده و به‌تبع آن به مخاطره انداختن سلامت مصرف‌کنندگان آبزی است.

در پایان با توجه به نتایج حاصل از این مطالعه، عصاره اتانولی برگ کرفس کوهی در شرایط آزمایشگاهی[3] دارای قابلیت ضد باکتریایی قابل‌ملاحظه‌ای روی *استرپتوکوکوس اینیایی* است و در ادامه لازم است مطالعات بیشتری در شرایط بالینی[4] و آزمایشگاهی انجام شود تا عواملی همچون مناسب‌ترین میزان دوز مؤثر این عصاره بر باکتری، ارزیابی سمیت احتمالی عصاره، بررسی خواص، به دست آوردن دوز

[1] *Bacillus cereus*
[2] *Listeria innocua*
[3] *in vivo*
[4] in vivo

Archive of SID
www.SID.ir

مؤثر و مکانیسم اثر ارزیابی شود. همچنین به‌طور کامل مشخص نیست که از بین اجزای متعدد عصاره این گیاه، کدام جزء باعث ایجاد این اثرات در ماهی شده است تا بتوان این عصاره را به‌عنوان یک ماده ضدمیکروبی طبیعی و جدید معرفی کرد.

منابع

۱. سعیدی، ک.، امید بیگی ، ر.، ۱۳۸۸. بررسی میزان و ترکیب اسیدهای چرب ، میزان کل مواد فنولیکی و میزان اسانس بذر گیاه دارویی کلوس (*Kelussia odoratissima Mozaff*) . فصلنامه تحقیات گیاهان دارویی و معطر ایران، ۲۵ (۱)، ۱۱۹-۱۱۳.

۲. سلیمی، م.، ابراهیمی،ع.، شجاعی‌اسعدیه، ز.، ساعی‌دهکردی، س.س.، ۱۳۸۹. استخراج و شناسایی ترکیب های شمیایی کرفس کوهی (*Kelussia odoratissima mozaff*) . فصلنامه علمی پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران ، ۲۶(۲) ، ۱۵۶-۱۴۷.

۳. قادری، ر.، حسن پور، م.، سعادت جو، س.ع.، ۱۳۸۳. مقایسه اثر ضد باکتری عصاره الکلی گیاه کاسنی با آنتی بیوتیک های جنتامایسین و سفالکسین (مطالعه آزمایشگاهی). مجله دانشگاه علوم پزشکی بیرجند. ۱۱(۴)، ۴۰-۴۵.

۴. مشرقی، م.، عزیزی، م.، عروجعلیان، ف.، شاه طهماسبی، ن.، ۱۳۹۳. بررسی ترکیبات موثره و اثرات ضد باکتریایی اسانس کرفس کوهی (*Kelussia odoratissima*) و کلپوره (*Teucrium polium*) بر برخی از پاتوژن های مواد غذایی. نشریه علوم باغبانی، ۲۸ (۴)، ۴۹۵-۴۸۷.

5. Abutbul, S., Golan-Goldhirsh, A., Barazani, O., Zilberg, D., 2004. Use of *Rosmarinus Officinalis* as a Treatment against Streptococcus Iniae in Tilapia (*Oreochromis* Sp.). Aquaculture, 238 (1-4): 97–105.

6. Agnew, W., Barnes, A.C., 2007. Streptococcus Iniae: An Aquatic Pathogen of Global Veterinary Significance and a Challenging Candidate for Reliable Vaccination. Veterinary Microbiology, 122 (1-2): 1–15.

7. Boyan, B,. Hooper, J., Parisot J,. 2008., Principles of Assessing Bacterial Susceptibility to Antibiotics Using the Agar Diffusion Method. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 61(6): 1295–1301.

8. Cabello, Felipe C., Henry P. Godfrey, Alexandra Tomova, Larisa Ivanova, Humberto Dölz, Ana Millanao, and Alejandro H. Buschmann., 2013. Antimicrobial Use in Aquaculture Re-Examined: Its Relevance to Antimicrobial Resistance and to Animal and Human Health. Environmental Microbiology, 15 (7): 1917–42.

9. Eldar, A., Horovitcz, A., and Bercovier, H., 1997. Development and Efficacy of a Vaccine against Streptococcus Iniae Infection in Farmed Rainbow Trout. Veterinary Immunology and Immunopathology, 56 (1-2): 175–83.

10. Farhat, D., Pande, G., Joshi, M., Pathak, R., and Wankhede, Sh., 2013. A Study of Antibacterial Effect of Some Selected Essential Oils and Medicinal Herbs Against Acne Causing Bacteria. International Journal of Pharmaceutical Science Invention, 2 (1): 27–34..

11. Ghasemi Pirbalouti, A., Malekpoor, F., Enteshari, Sh., Yousefi, M., Momtaz, H., 2010. Antibacterial Activity of Some Folklore Medicinal Plants Used by Bakhtiari Tribal in Southwest Iran.

Archive of SID

www.SID.ir

International Journal of Biology, 2 (2): 55–63.

12. Heidari Sureshjani, M., Tabatabaei Yazdi, F., Mortazavi, A., Shahidi, F., 2014. Comparison of the Inhibitory and Antibacterial Effect of Aqueous and Ethanolic Extract of *Kelussia Odoratissima* on Some Pathogenic Bacteria ‘in Vitro . Monthly Journal of Rafsanjan University of Medical Science, 13 (9): 775–84.
13. Magaldi, S., Mata-Essayag, S., Hartung de Capriles C., Perez, C., Colella, M.T, Olaizola, C., Ontiveros Y., 2004. Well Diffusion for Antifungal Susceptibility Testing. International Journal of Infectious Diseases, 8 (1): 39–45.
14. Shahrani, M., Raissy M., and Tajbakhsh. E., 2014. Study of Frequency and Antimicrobial Resistance of Lactococcus Garvieae in Rainbow Trout Fish in Chaharmahal va Bakhtiari Province. Biological Journal of Microorganism, 3 (11): 71–78.
15. Soltani, M., Hazeri, M., Sharifpour, E., Mirzargar, S., Shohre, P., 2012. Study of Bacterial Diseases in Farmed Rainbow Trout (*Oncorhynchus mikyss*) in Mazandaran Province, Iran. Veterinary Research (Garmsar Branch), 8 (124): 1–12.
16. Soltani, M., Jamshidi, Sh., Sharifpour, I., 2005. Streptococcosis Caused by Streptococcus Iniae in Farmed Rainbow Trout (*Oncorhynchys mykiss*) in Iran : Biophysical Characteristics and Pathogenesis . Bulletin of the European Association of Fish Pathologists, 25(3): 95–106.
17. Soltani, M., Nikbakht, Gh., Mousavi, H.A. E., Ahmadzadeh, N., 2008. Epizootic Outbreaks of Lactococcosis Caused by Lactococcus Garvieae in Farmed Rainbow Trout (*Oncorhynchus* m*ykiss*) in Iran. Bulletin of the European Association of Fish Pathologists, 28 (5): 207–12.
18. Wistreich, G.A., 1997. Microbiology Laboratory, Fundamentals and Applications 6th ed. USA: Prentice-Hall: 324.

Archive of SID

www.SID.ir