

بررسی اثر ضد باکتریایی برخی عصاره و اسانس‌های گیاهی بر باکتری ویبریو پاراهمولیتیکوس

مهدی رئیسی^{۱*} علی دغاغله^۲، مجتبی علیشاهی^۳، مهدی رحیمی^۲

۱. گروه بهداشت و بیماری‌های آبزبان، دانشکده دامپزشکی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران.

۲. واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران.

۳. گروه بهداشت و بیماری‌های آبزبان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران، اهواز، ایران.

*نویسنده مسئول: mehdi.raissy@iaushk.ac.ir

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۵/۱۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۴/۲۳

چکیده

در این تحقیق اثرات ضدباکتریایی عصاره‌های هیدروالکلی ۸ گیاه دارویی (مرزه بختیاری، زیره سبز، بابونه کبیر، مورد، چای کوهی، مریم‌گلی، بومادران کلاری، درمنه) و اسانس گیاهان مرزه بختیاری، زیره سبز، بابونه، درمنه، بومادران و مورد بر باکتری ویبریو پاراهمولیتیکوس مورد بررسی قرار گرفت. به منظور تعیین اثر ضد میکروبی از روش‌های استاندارد تهیه رقت در لوله و نیز انتشار دیسک استفاده گردید. نتایج مشخص نمود که در بین عصاره‌های استفاده شده، مرزه بختیاری با قطر هاله عدم رشد ۱۵ میلی‌متر بیشترین اثر ضدباکتریایی بر ویبریو پاراهمولیتیکوس را داشت. همچنین عصاره گیاهی بابونه و زیره به ترتیب با قطر هاله عدم رشد ۱۴ و ۱۱/۶۷ بر باکتری مورد اشاره موثر بودند ولی بقیه عصاره‌ها اثرات چندانی نداشتند. نتایج همچنین نشان داد که اثرات ضدباکتریایی اسانس‌ها قوی‌تر بود و بیشترین اثرات ضدباکتریایی به ترتیب مربوط به مرزه بختیاری، بابونه و زیره بود. به طور کلی می‌توان نتیجه گرفت که با توجه به اثر مناسب اسانس مرزه بختیاری، بابونه و زیره می‌توان از این اسانس‌ها به عنوان جایگزین مناسب برای حذف باکتری ویبریو پاراهمولیتیکوس استفاده نمود.

واژگان کلیدی: قدرت ضدباکتریایی، عصاره‌های گیاهی، اسانس‌های گیاهی، ویبریو پاراهمولیتیکوس.

مقدمه

صورت پذیرفته است و در مورد اثرات ضد میکروبی گیاهان دارویی در آبزبان به نظر می‌رسد که امکان مطالعات بیشتری وجود دارد. ویبریو پاراهمولیتیکوس از مهمترین باکتری‌های بیماری‌زا در آبزبان و همچنین در انسان می‌باشند که از نظر بهداشت مواد غذایی دریایی اهمیت بسیار زیادی داشته و حضور آن می‌تواند منجر به بروز مسمومیت‌های غذایی در شخص مصرف‌کننده شود (Ray et al., 2004). ویبریو پاراهمولیتیکوس باکتری گرم منفی ساکن مناطق دریایی و فلور معمول آب‌های دریایی و مصب رودخانه‌ها است که در دامنه دمایی ۵ تا ۴۳ درجه سانتی‌گراد رشد کرده و جهت رشد به حداقل ۰/۵ درصد نمک نیاز دارد. ویبریو پاراهمولیتیکوس سبب ایجاد گاستروانتریت حاد همراه با

سابقه مصرف گیاهان دارویی قدمتی برابر با تاریخ بشریت دارد. داروهای گیاهی طی قرن‌های متمادی تنها منبع قابل دسترس جهت درمان بیماری‌های مختلف بوده‌اند و امروزه نیز با وجود پیشرفت علم و توسعه کاربرد داروهای سنتزی، هنوز گیاهان دارویی در مقیاس وسیع مورد استفاده قرار می‌گیرند (زرگری، ۱۳۶۹). از طرفی ایران به علت تنوع آب و هوایی و وسعت زیاد دارای طیف وسیعی از گیاهان دارویی است که پایه و اساس طب سنتی کشور نیز می‌باشد (زرگری، ۱۳۶۹؛ قاسمی دهکردی، ۱۳۸۲؛ Shahidi, 2004). مطالعات متعددی در مورد اثرات گیاهان دارویی در انسان و حیوانات آزمایشگاهی همانند موش، خرگوش و خوکچه‌هندی

($1/5 \times 10^8$) تنظیم گردید. این سوسپانسیون به‌عنوان ذخیره در نظر گرفته شده و در هنگام مصرف (در همان روز) به نسبت ۱:۱۰۰ در همان محیط رقیق گردید ($1/5 \times 10^6$).

تعیین کمترین رقت مهاری رشد (MIC) آزمایش حداقل غلظت ممانعت از رشد در پلیت ۹۶ گوده-ای استریل و با روش براث میکروداپلوشن انجام شد (Natarajan et al., 2005). برای این منظور ابتدا ۱۰۰ میکرولیتر از محیط کشت مولر هینتون براث (مرک، آلمان) داخل ردیف اول تا دهم گوده‌ها ریخته و سپس به اولین گوده هر ردیف ۱۰۰ میکرولیتر اسانس و عصاره اضافه گردید. گوده ردیف دهم حاوی ۱۰۰ میکرولیتر محیط کشت و فاقد اسانس و عصاره بود. سپس به گوده‌های آزمایش میزان ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتری (با تراکم $1/5 \times 10^6$ باکتری در میلی‌لیتر) اضافه گردید، لازم به ذکر است به ردیف کنترل باکتری اضافه نشد. بعد از ۲۴ ساعت گرم‌خانه‌گذاری در ۲۵ درجه سانتی‌گراد، نتایج قرائت گردید. کدورت (درمقایسه با ردیف کنترل) به‌عنوان رشد باکتری و شفافیت، به‌عنوان عدم رشد باکتری در نظر گرفته شد (Fereidoni et al., 2009) و آخرین گوده‌ای که کدورتی را نشان نداد، به‌عنوان حداقل غلظت ممانعت از رشد گزارش گردید. در مورد هر اسانس و عصاره حداقل سه تکرار جداگانه در نظر قرار گرفت.

تعیین کمترین رقت باکتری کشی (MBC)

برای تعیین حداقل غلظت باکتری کشی از همه گوده‌های فاقد کدورت آزمون MIC در محیط مولر هینتون آگار کشت داده شد. محیط‌ها به‌مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲۵ درجه گرم‌خانه‌گذاری گردیدند و کمترین غلظتی از اسانس و عصاره که باعث کشته شدن حداقل ۹۹ درصد باکتری‌ها گردیده بود، به‌عنوان حداقل غلظت ممانعت از رشد گزارش گردید. آزمایشات در سه تکرار جداگانه انجام گردید.

نشانه‌های تهوع، استفراغ و کرامپ شکمی، تب ملایم، لرز و اسهال (مدفوع آبکی و گاهی خونی) و همچنین گاهی عفونت‌های خارج روده‌ای نظیر عفونت چشم، گوش و عفونت زخم در اندام‌های انتهایی انسان می‌شود (Jay et al., 2005; Thomson et al., 2002; Lowry et al., 1989). در بسیاری از موارد بروز بیماری به‌طور مستقیم مرتبط با مصرف غذاهای دریایی است و غذاهای دیگر در صورت آلودگی متقاطع عامل ایجادکننده بیماری محسوب می‌گردند (Ray et al., 2004). این مطالعه با هدف بررسی اثر ضد میکروبی عصاره و اسانس برخی گیاهان داروئی بر ویبریو پاراهمولیتیکوس در شرایط آزمایشگاهی صورت پذیرفت.

مواد و روش کار

عصاره و اسانس‌گیری

جهت عصاره‌گیری از روش پرکولاسیون استفاده شد، بدین منظور به ۱۰۰ گرم از گیاه موردنظر، میزان ۵۰۰ میلی‌لیتر اتانول ۷۰ درصد (مرک، آلمان) اضافه شد و در نهایت پس از گذشت ۷۲ ساعت و قرار دادن در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد (آون مدل U632، فاطر الکترونیک، ایران) عمل فیلتراسیون روی عصاره صورت گرفت و پس از عبور از صافی، در دستگاه روتاری قرار داده و اقدام به تغلیظ عصاره گردید. به منظور اسانس‌گیری نیز از سیستم کلوینجر استفاده شد. مقدار ۱۰۰ گرم از گیاه را همراه آب به داخل بالن ریخته و اسانس‌گیری طی مدت ۳ ساعت در دمای ۶۰ درجه انجام گرفت (Natarajan et al., 2005).

روش تهیه سوسپانسیون باکتریایی

باکتری در محیط تریپتیکاز سوی براث (TSB) کشت داده شد و به‌مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد گرم‌خانه‌گذاری گردید. سپس در شرایط استریل، باکتری به محیط مولر هینتون براث اضافه شد. بعد از ۲۴ ساعت گرم‌خانه‌گذاری در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، میزان کدورت ایجاد شده حاصل از رشد باکتری با استفاده از اسپکتوفتومتر با لوله استاندارد مک فارلند شماره ۰/۵

تعیین قطر هاله‌های عدم رشد

برای تعیین قطر هاله عدم رشد، با استفاده از پیت پاستور استریل و پمپ خلاء، اقدام به ایجاد چاهک‌هایی به قطر ۵ میلی‌متر بر روی محیط مولر هینتون آگار در شرایط استریل شد. سپس باکتری به روش کشت سفره‌ای در سه جهت (همانند آزمایش آنتی بیوگرام) کشت داده شد. میزان ۲۵ میکرولیتر از مقادیر بدست آمده در آزمون MIC در حداقل سه تکرار برای هر اسانس و عصاره به گوده‌ها اضافه گردید و بعد از گرم‌خانه‌گذاری به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲۵ درجه، هاله عدم رشد باکتری با خط‌کش مخصوص بر حسب میلی‌متر اندازه‌گیری و ثبت گردید. آزمایشات حداقل در ۵ تکرار جداگانه انجام گرفت.

تجزیه و تحلیل آماری

در نهایت اطلاعات به‌دست آمده با استفاده از نرم‌افزار SPSS و با روش آنالیز واریانس یکطرفه (ANOVA) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. به‌منظور بررسی معنی‌دار بودن تفاوت میانگین‌های قطر هاله عدم رشد، از تست تکمیلی دانکن در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ استفاده شد.

نتایج

نتایج نشان دهنده اثرات ضدباکتریایی مناسب برخی عصاره‌های مورد استفاده بود، به‌طوری‌که این اثر قابل مقایسه با آنتی‌بیوتیک‌های موثر بر باکتری مورد بررسی می‌باشد. حداقل رقت مهاری رشد عصاره‌های مورد بررسی در مورد هر باکتری در جدول ۱ نشان داده شده است.

نتایج روش لوله‌ای

بیشترین قدرت ضدباکتریایی (کمترین میزان MIC) به ترتیب در مرزه بختیاری، بابونه و زیره و مورد مشاهده گردید. در صورتی‌که بقیه عصاره‌های مورد بررسی اثرات ضد باکتریایی مناسبی نداشتند. عصاره مرزه با (MIC=25, MBC=50) بیشترین اثر ضدباکتریایی را بر روی باکتری ویبریو پاراهمولیتیکوس نشان داد و بعد از آن بابونه (MIC, MBC=200) بهترین اثر ضد باکتریایی را داشت. مورد و زیره (MIC, MBC=200) و (MIC, MBC=100) بر روی باکتری ویبریو پاراهمولیتیکوس اثر ضدباکتری متوسطی نشان دادند. سایر عصاره‌ها اثرات چندان موثری بر رشد باکتری نداشتند.

جدول ۱- حداقل غلظت ممانعت کننده رشد و حداقل قدرت باکتری کشی عصاره‌های مورد استفاده بر باکتری ویبریو پاراهمولیتیکوس

عصاره گیاهان	۲۰۰ میکرولیتر	۱۰۰ میکرولیتر	۵۰ میکرولیتر	۲۵ میکرولیتر	۱۲/۵ میکرولیتر	۶/۲۵ میکرولیتر	۳/۱۲۵ میکرولیتر
چای کوهی	+	+	+	+	+	+	+
مریم گلی	+	+	+	+	+	+	+
بومادران	+	+	+	+	+	+	+
درمنه	+	+	+	+	+	+	+
مرزه	MBC	MIC	+	+	+	+	+
زیره	-	-	-	MIC	MBC	+	+
بابونه	MIC/MBC	+	+	+	+	+	+
مورد	MIC/MBC	+	+	+	+	+	+

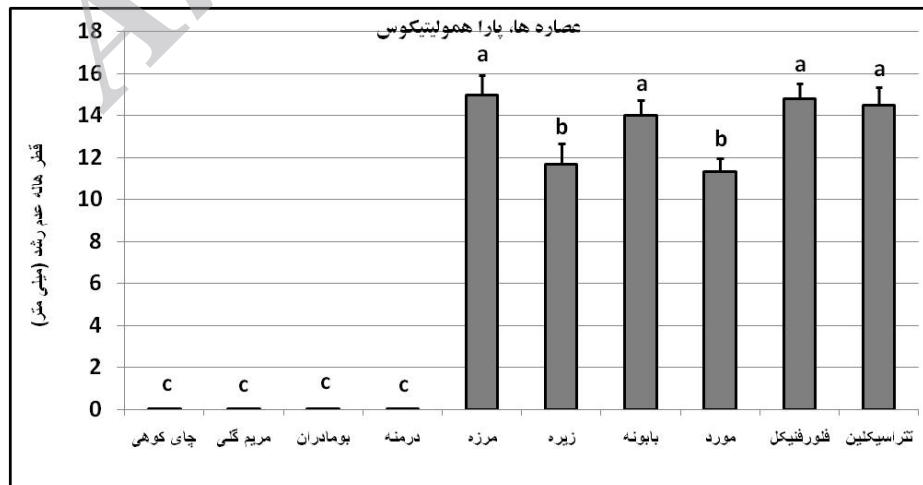
نتایج دیسک گذاری

به اندازه ۱۱/۶۷ میلی‌متر تشکیل شد. نکته قابل توجه در جدول ۲ افزایش قطر هاله عدم رشد در عصاره‌هایی است که MIC و MBC کمتری دارند به طوری که هاله عدم رشد ایجاد شده در محیط کشت بعد از بکاربردن عصاره مرزه در مورد باکتری ویبریو پاراهمولیتیکوس ۱۵ میلی‌لیتر بود میزان MIC این عصاره برابر با ۵۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر مشخص گردید ولی در مورد عصاره‌هایی که میزان MIC آن‌ها ۱۰۰ و ۲۰۰ تعیین شد قطر هاله عدم رشد نیز کمتر از ۱۵ میلی‌متر بود.

هاله عدم رشد باکتری در محیط کشت نیز در مورد اکثر عصاره‌های مورد بررسی ایجاد گردید (جدول ۲) ولی از آنجا که قطر هاله عدم رشد کمتر از ۱۵ میلی‌متر ارزش ضدباکتریایی مناسبی محسوب نمی‌گردد، نمی‌توان فقط ایجاد هاله را حاکی از توان ضدباکتریایی بالای عصاره دانست. بیشترین قطر هاله عدم رشد متعلق به عصاره مرزه و برابر با ۱۵ میلی‌متر بود. عصاره بابونه نیز هاله‌ای به میزان ۱۴ میلی‌متر ایجاد نمود و در مورد نیز هاله ای به میزان ۱۱/۳۴ میلی‌متر ایجاد کرد و در عصاره زیره هاله‌ای

جدول ۲- خلاصه نتایج قطر هاله، MIC و MBC عصاره‌های بررسی شده

عصاره گیاهان	MIC	MBC	قطر هاله	انحراف معیار
چای کوهی	>۲۰۰	>۲۰۰	-	-
مریم گلی	>۲۰۰	>۲۰۰	-	-
بومادران	>۲۰۰	>۲۰۰	-	-
درمنه	>۲۰۰	>۲۰۰	-	-
مرزه	۱۰۰	۲۰۰	۱۵	۰/۹۵
زیره	۱۲	۲۵	۱۱/۶۷	۰/۹۵
بابونه	۲۰۰	۲۰۰	۱۴	۰/۹۲۵
مورد	۲۰۰	۲۰۰	۱۱/۳۴	۰/۶۲
فلورفنیکول	-	-	۱۴/۸	۰/۷۳
اکسی تتراسایکلین	-	-	۱۴/۵	۰/۸۶



نمودار ۱- هاله عدم رشد در باکتری ویبریو پاراهمولیتیکوس در محیط TSA. حروف a و b و c در بالای میله انحراف معیار نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح اطمینان ۹۵٪ با تیمار شاهد است.

همانطور که مقایسه نتایج عصاره‌ها و اسانس‌ها نشان می‌دهد اسانس‌ها اثرات ضدباکتریایی بیشتری نسبت به عصاره‌های بررسی شده داشته‌اند و MIC و MBC اسانس‌ها کمتر از عصاره‌ها بوده است. حداقل غلظت ممانعت از رشد و حداقل غلظت باکتری‌کشی اسانس مرزه، زیره و مورد برابر ۵۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بود. MIC و MBC اسانس درمنه و بومادران برابر ۲۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر و برای اسانس بابونه برابر ۱۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر به دست آمد.

در مورد مقایسه اثر عصاره‌های بکار رفته در تحقیق بر باکتری ویبریو پاراهمولایتیکوس همانطور که در نمودار ۱ مشاهده می‌شود مرزه اثرات قابل رقابت با آنتی‌بیوتیک‌های تجاری را داشته ولی بابونه، زیره و مورد دارای اثرات ضدباکتریایی کمتر از آنتی‌بیوتیک‌ها هستند و سایر عصاره‌ها فاقد اثر مناسبی اند.

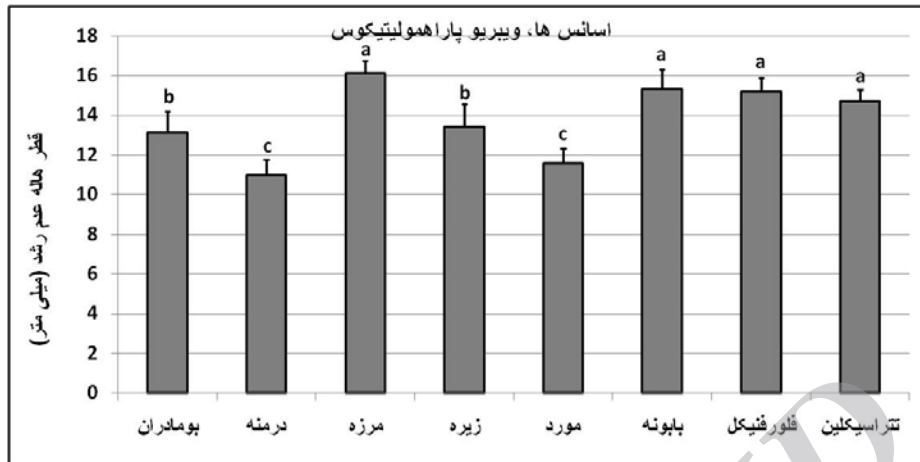
نتایج اثرات ضدباکتریایی اسانس به روش لوله‌ای تمام گیاهان استفاده شده در این تحقیق دارای اسانس نبوده لذا از تمام گیاهان اسانس گرفته نشده است و فقط از شش گیاه بومادران، درمنه، مرزه، بابونه، زیره و مورد اسانس‌گیری شد.

جدول ۳- حداقل غلظت ممانعت کننده رشد (MIC) و حداقل قدرت باکتری‌کشی (MBC) اسانس‌ها بر ویبریو پاراهمولایتیکوس.

اسانس گیاهان	۲۰۰ میکرولیتر	۱۰۰ میکرولیتر	۵۰ میکرولیتر	۲۵ میکرولیتر	۱۲/۵ میکرولیتر	۶/۲۵ میکرولیتر	۳/۱۲۵ میکرولیتر
بومادران	MBC	MIC	+	+	+	+	+
درمنه	MIC/MBC	+	+	+	+	+	+
مرزه	-	-	-	MBC	MIC	+	+
زیره	-	MIC/MBC	+	+	+	+	+
بابونه	-	MBC	MIC	+	+	+	+
مورد	-	MIC/MBC	+	+	+	+	+

جدول ۴- خلاصه نتایج قطر هاله، MIC و MBC اسانس‌های مورد بررسی

گیاهان	MBC	MIC	قطر هاله	انحراف معیار
بومادران	۲۰۰	۱۰۰	۱۳/۳	۱/۰۷
درمنه	۲۰۰	۲۰۰	۱۱	۰/۷۹
مرزه	۲۵	۱۲/۵	۱۶/۲	۰/۶۲
زیره	۱۰۰	۱۰۰	۱۳/۳۴	۱/۱۵
مورد	۱۰۰	۱۰۰	۱۱/۶	۰/۷۲۵
بابونه	۱۰۰	۵۰	۱۵/۳	۱
فلورفنیکل	-	-	۱۵/۲	۰/۷۸۵
تترا سیکلین	-	-	۱۴/۷	۰/۶۱۵



نمودار ۲- قطر هاله ممانعت از رشد باکتری ویبریو پاراهمولیتیکوس توسط غلظت MIC اسانس ها مختلف. حروف a و b و c در بالای میله انحراف معیار نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح اطمینان ۹۵٪ با تیمار شاهد است.

تولید می‌شوند، می‌باشد (Razzaghi-Abyaneh et al., 2008). وجود دو ترکیب تیمول و کارواکرول در مرزه زراعی عامل مهم ضدقارچی آن به حساب می‌آید. در بررسی دیگری (قاسمی پیربلوطی و همکاران (۱۳۸۷) در خصوص اثر ضد کاندایدائی (*Candida albicans*) عصاره و اسانس مرزه بختیاری، اثر ضد قارچی معنی داری با داروی آمفوتریسین بی را به اثبات رساندند. مشابهت نتایج تحقیق جاری با تحقیقات فوق نشان دهنده اثر بالای اسانس و عصاره این گیاه حتی در شوری بالا است به طوری که در باکتری ویبریو پاراهمولیتیکوس به علت تحمل شوری بالا در مقایسه با باکتری‌های آب شیرین حساسیت متفاوتی نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها و عوامل ضد باکتریایی دارند. لذا می‌توان از این گیاه به‌عنوان یک گزینه مناسب در کنترل ویبریو استفاده نمود.

نتایج حاکی از اثرات مناسب عصاره بابونه بر باکتری مورد آزمون بود. در تحقیق مشابه اثرات ضدباکتریایی این گیاه بر روی برخی باکتری‌های بیماری‌زای انسانی گزارش شده است. نوری‌زاده و همکاران (۱۳۸۳) در پژوهشی، اثر ضد باکتریایی عصاره بابونه بر هلیکوباکتر پیلوری (عامل زخم معده در انسان) را بررسی نمودند و دریافتند که عصاره بابونه اثر ضدباکتریایی نسبتاً مناسبی بر علیه هلیکوباکتر پیلوری

همانطور که در نمودار ۲ مشخص است قطر هاله عدم رشد باکتری ویبریو پاراهمولیتیکوس در مرزه و بابونه با آنتی‌بیوتیک‌های اکسی‌تتراسایکلین و فلورفتیکل یکسان و فاقد تفاوت معنی دار است ($P > 0.05$).

بحث

در این تحقیق، آثار ضد میکروبی هشت عصاره گیاهی علیه ویبریو پاراهمولیتیکوس مطالعه شد. در بین عصاره‌ها، عصاره مرزه بختیاری بالاترین تاثیر ضدباکتریایی را داشت و عصاره زیره و بابونه و مورد اثرات ضدباکتریایی کمتری از خود نشان دادند و بقیه عصاره‌ها فاقد اثر ضدباکتریایی بودند.

با توجه به نتایج به دست آمده، عصاره مرزه بختیاری بیشترین اثر ضدباکتریایی را با $MBC=200$ و $MIC=100$ و قطر هاله ۱۵ میلی‌متر) بر باکتری ویبریو پاراهمولیتیکوس داشته است. اسانس این گیاه نیز اثر ضد باکتریایی مناسب $MBC=12/5$ و $MIC=25$ و قطر هاله ۱۶/۲ میلی‌متر) بر باکتری ویبریو پاراهمولیتیکوس نشان داد. در مطالعات مختلف اثرات ضدباکتریایی این گیاه گزارش شده است. در مطالعه‌ای در سال ۲۰۰۸ در خصوص تعیین ممانعت کننده آفلاتوکسین (AF) توسط مرزه مشخص شد که اسانس این گیاه یک ممانعت کننده قوی برای آفلاتوکسین B_1 و G_1 (AFB₁) و G_1 (AFG₁) که توسط اسپرژیلوس پارازیتیکوس

دریافتند که این عصاره تاثیر بیشتری روی *اشرشیا کلای* نسبت به ویبریو دارد و این تاثیر نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های تجاری کمتر است. قاسمی پیربلوطی (۱۳۸۶) اثرات عصاره مورد بر روی سه باکتری *اشرشیا کلای*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *باسیلوس سرئوس* در شرایط آزمایشگاهی را به روش دیسک‌گذاری مورد بررسی قرار دادند. به طور کلی نتایج اخیر حاکی از آن بود که عصاره الکلی مورد اثرات ضد باکتریایی مناسبی در مقایسه با سه داروی جنتامایسین، تتراساکلین و کلرامفنیکل بر باکتری‌های مورد بررسی داشت. علی‌رغم اثرات بسیار مناسب ضدباکتریایی این گیاه در برابر طیف وسیعی از عوامل بیماری‌زای انسانی، اثرات مثبت چندانی در برابر باکتری ویبریو در تحقیق جاری مشاهده نشد و این عدم تاثیر مناسب را می‌توان به روش‌های دفاعی خاص باکتری ویبریو که یک باکتری شوری دوست است در برابر عوامل ضدباکتریایی دانست و حتی برخی محققین اعتقاد دارند بخشی از اجزای دارای قدرت ضدباکتریایی عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهی در شوری بالا شلاته شده و از دسترس باکتری خارج می‌شوند.

نتیجه‌گیری

در بین ۸ گیاه دارویی مورد بررسی (چای کوهی، مریم‌گلی، درمنه کوهی، بومادران کلاری، مرزه بختیاری، زیره، بابونه و مورد) که دارای اثرات ضدباکتریایی در حیوانات خونگرم بودند، عصاره و اسانس گیاه مرزه بختیاری دارای بیشترین اثرات ضدباکتریایی بود و سه گیاه مورد، بابونه و زیره نیز دارای اثرات ضدباکتریایی نسبی بر ویبریو *پاراهمولیتیکوس* بودند، لذا تفاوت‌هایی بین اثرات ضدباکتریایی عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهی بر روی باکتری‌های بیماری‌زای حیوانات خونگرم و خونسرد مثل ماهی وجود دارد و بیشتر عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهی مورد مطالعه در این تحقیق، علی‌رغم اثرات ضدباکتریایی بالا در برابر عوامل باکتریایی بیماری‌زای حیوانات خونگرم و انسان، اثر مناسب ضدباکتریایی بر علیه ویبریو نداشتند. لذا در انتخاب عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهی

داشت. ایزدی و همکاران (۱۳۹۱) نیز اثرات ضد میکروبی مناسب اسانس بابونه کبیر را بر روی *باسیلوس سوبتیلیس* و *باسیلوس سرئوس* گزارش نمودند. عطایی و همکاران در سال ۱۳۸۹ در پژوهشی اثر عصاره بابونه را بر باکتری‌های شایع دهانی انجام داد و اثرات ضد میکروبی آن را تأیید نمودند. سرخیز و همکاران (۱۳۸۷) در پژوهشی اثر ضدباکتریایی اسانس بابونه را بررسی کردند و دریافتند که اسانس بابونه بیشترین اثر ضدباکتریایی را بر روی باکتری *اشرشیا کلای* و کمترین اثر را بر باکتری *سودوموناس* دارد. از آنجا که باکتری‌های مورد بررسی در تحقیق جاری مربوط به آب‌شور می‌باشند، مطمئناً مکانیسم‌های بیماری‌زایی و نیز واکنش‌های دفاعی متفاوتی نسبت به عوامل بیماری‌زای فوق‌دارا هستند که این امر احتمالاً یکی از دلایل تفاوت نتایج تحقیق حاضر با تحقیقات مشابه نیز می‌باشد. نتایج همچنین حاکی از اثر نسبتاً مناسب عصاره زیره بر ویبریو بود. سنجولی و همکاران (۱۳۹۱) اثرات ضد باکتریایی زیره، میخک، سماق و رزماری را بر باکتری ویبریو *الجینولیتیکوس* گزارش نمودند، به طوری که اسانس زیره و میخک بیشترین اثر را بر این باکتری داشتند که قابل رقابت با آنتی‌بیوتیک‌های تجاری بود.

دانشمندی و همکاران (۱۳۸۸) در تحقیقی فعالیت اسانس زیره سبز را بررسی کرد که اسانس زیره سبز با قطر هاله عدم رشد ۴۴ میلی‌متر اثر ضدباکتریایی بر علیه *باسیلوس سرئوس* داشت. فضل آرا و همکاران (۱۳۹۰) در پژوهشی اثر ضدباکتریایی اسانس گیاه زیره سبز را بر باکتری *لیستریا مونوسیتوزنز* به اثبات رساند. نتایج مرادی و همکاران (۱۳۹۰) و محمودی و همکاران (۱۳۹۱) نیز حاکی از اثر زیره بر رشد باکتری *باسیلوس سرئوس* و *استافیلوکوکوس اورئوس* بوده است که با نتایج تحقیق حاضر هم‌خوانی دارد.

مورد نیز یکی از گیاهان دارای خواص ضد میکروبی قابل توجه است. طاهری و همکاران (۱۳۹۰) اثرات ضدباکتریایی عصاره مورد را بر باکتری ویبریو *کلرا* بررسی نمودند و

۷. طاهری، علی، سیفان، امیر، جلالی‌نژاد، سمیرا، ناصری، فاطمه. (۱۳۹۰). تاثیر ضد میکروبی عصاره هیدروالکلی برگ مورد روی چند سویه باکتری بیماری‌زا، مجله تحقیقات علوم پزشکی زاهدان، صفحه ۵۳-۴۶.

۸. عروجعلیان، فاطمه، کرمانشاهی، روحا. (۱۳۸۹). بررسی خواص فیتوشیمیایی و ضدباکتریایی اسانس بومادران شیرازی به روش میکرودايلوشن. نشریه علوم باغبانی، سال ۲۴، شماره ۱، نیمسال اول، صفحه ۱۱۵-۱۰۹.

۹. طایی، زهرا، عبدالهی، حمید، نادری‌پور، سمیه، محمدی، سیروس. (۱۳۸۵). بررسی آزمایشگاهی اثر عصاره گیاهی بومادران، بابونه، ردوند، بر قارچ کاندیدا آلبیکنس و باکتری شایع دهانی در سال ۱۳۸۳، مجله دندانپزشکی جامعه اسلامی دندانپزشکان، سال ۱۸، شماره ۳، صفحه ۴۳-۳۵.

۱۰. فضل آرا، علی، صادقی، احسان، رستمی سلیمانی، پگاه. (۱۳۹۱). مطالعه تاثیر ضدباکتریایی اسانس گیاه زیره سبز بر باکتری لیستریا مونوسیژنوز در پنیر سفید ایرانی، فصلنامه علوم و صنایع غذایی، سال ۹، شماره ۳۵، صفحه ۴۴-۳۵.

۱۱. قاسمی پیربلوطی، عبدالله. (۱۳۸۶). گزارش نهایی طرح پژوهشی، بررسی وضعیت خواب، جوانه‌زنی و برخی خصوصیات کیفی بذر گونه مرتعی و دارویی کلوس یا کرفس معطر بختیاری، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهرکرد.

۱۲. قاسمی پیربلوطی، عبدالله، بهمنی، محمود، آویژگان، محمد، ممتاز، حسن و یوسفی، محمد. (۱۳۸۷). بررسی خواص ضد کاندیدا آلبیکنس چند گونه گیاه دارویی بومی ایران، مجموعه مقالات کنگره بین المللی طب سنتی و مکمل، ساری، ایران.

۱۳. قاسمی دهکردی، نصراله، سجادی، ابراهیم، قنادی، علیرضا، امن زاده، یعقوب. (۱۳۸۲). فارماکوپه گیاهی ایران. مجله پژوهشی حکیم، سال ۶، شماره ۳، صفحه ۷۴-۶۳.

به‌منظور کنترل و درمان باکتری‌های با منشاء آبزیان نمی‌توان به یافته‌های گزارش شده از اثر ترکیبات مذکور بر باکتری‌های جدا شده از انسان و حیوانات خونگرم اتکا نمود.

منابع

۱. امجد، لیلا، محمدی کمال‌آبادی، مرضیه، محمدی سیجانی، مریم. (۱۳۹۰). فعالیت ضدباکتریایی عصاره متانولی گل و برگ گیاه بومادران. مجله دانشگاه علوم پزشکی قم، سال پنجم، شماره سوم، پاییز ۹۰، صفحه ۵۶-۵۰.

۲. ایزدی، زهرا، مدرس‌نابوی، علی، اثنی‌عشری، محمودپ، داودی، پوراندخت. (۱۳۹۲). اثر ضد میکروبی اسانس گیاهان داروی بابونه آلمانی و بابونه کبیر، مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، سال ۱۸، شماره ۱، صفحه ۴۳-۳۱.

۳. تاجیک، ح، شکوهی، ف، جلالی، ث. (۱۳۸۷). ارزیابی مقایسه‌ای تاثیرات ضدباکتریایی عصاره‌های آبی و الکلی گیاه بومادران بر روی میکروارگانیسم‌های پاتوژن، مجله پزشکی ارومیه، سال ۱۹، شماره ۴، صفحه ۳۰۹-۳۰۲.

۴. زرگری، علی. (۱۳۶۹). گیاهان دارویی، انتشارات دانشگاه تهران، چاپ ششم، جلد چهارم، صفحه ۳۹-۲۸.

۵. سحرخیز، محمد جمال، ستاری، مرتضی، گودرزی، غلامرضا، امیدبگی، رضا. (۱۳۸۷). تعیین اثر ضدباکتریایی اسانس *Tanacetum purthenium* L، فصلنامه علمی - پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، جلد ۲۴، شماره ۱، صفحه ۵۵-۴۷.

۶. سنچولی، نرجس، غفاری، مصطفی، قرایی، احمد. (۱۳۹۱). اثرات ضد باکتری اسانس چند گونه گیاهی بر باکتری‌های ویبریو آجینولیتیکوس، لیستریا مونوسیژنوز و شرشیاکلی، پاتوبیولوژی مقایسه‌ای، سال نهم، شماره ۳،

21. Jay, J.M., Loessner, M.J., and Golden, D.A. 2005. Modern food microbiology. 7th ed, Springer, NY, USA.
22. Lowry, P.W., McFarland, L.M., Peltier, B.H., Roberts, N.C., Bradford, H.B., Herndon, J.L., Stroup, D.F., Mathison, J.B., Blake, P.A. and Gunn, R.A. 1989. Vibrio gastroenteritis in Louisiana: A prospective study among attendees of a scientific congress in Neworleans. J Infect Dis. 160: 978-84.
23. Natarajan, D., Britto, J.S., Srinivasan, K., Nagamuruganc, N., Mohanasundari, C. and Perumal, G. 2005. Anti-bacterial activity of *Euphorbia fusiformis*-A rare medicinal herb. J Ethnopharmacol. 102: 123-126.
24. Ramezani, M., Fazeli-Bazzaz, B.S., Saghafi-Khadem, F. and Dabaghian, A. 2004. Antimicrobial activity of four Artemisia species of Iran. Fitoterapia, 75: 201-203.
25. Ray B. Fundamental Food Microbiol. CRC Press.
26. Razzaghi-Abyaneh, M., Shams-Ghahfarokhi, M., Yoshinari, T., Rezaee, M.B., Jaimand, K., Nagasawa, H. and Sakuda, S. 2008. Inhibitory effects of *Satureja hortensis* L. essential oil on growth and aflatoxin production by *Aspergillus parasiticus*. Food Microbiol. 123: 228-233.
27. Shahidi B. 2004. Evaluation of antibacterial properties of some medicinal plants used in Iran. J Ethnopharmacol. 94: 301-305.
28. Thornton, V., Wayne, H. and Greg, S. 2002. Acute gastroenteritis associated with seafood privately imported food pacific Islands. NZ Med J. 115: 234-6.
14. کرمانشاهی، حمید، کمانگر، صبا، آرامی، سارا. (۱۳۸۸). بررسی آزمایشگاهی اثرات ضدباکتریایی عصاره هیدروالکلی مریم گلی و بومادران بر میکروورگانسیم‌های پوسیدگی‌زا. مجله دندانپزشکی جامعه اسلامی دندانپزشکان، سال ۲۱، شماره ۳، صفحه ۲۲۰-۲۱۵.
15. محمودی، رضا، احسانی، علی، زارع، پگاه. (۱۳۹۱). ویژگی‌های ترکیبات شیمیایی، ضدباکتریایی و آنتی‌اکسیدانی اسانس زیره سبز، نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی، سال ۲۲، شماره ۳، صفحه ۳۲۱-۳۱۱.
16. مخیر، بابا. (۱۳۷۴). بیماری‌های ماهیان پرورشی، چاپ ۳، انتشارات دانشگاه تهران، صفحه ۱۲.
17. مدرسی چهاردهی، امیر، ابراهیم، دارا، فریضا سلیمان، شیدا، ابوالحسنی، فرید. (۱۳۹۰). بررسی اثر عصاره‌های الکلی گیاه گزنه بر تعدادی باکتری‌های گرم‌منفی و گرم‌مثبت، فصلنامه گیاهان دارویی، دوره ۱۱، شماره ۴۲، صفحه ۹۸-۱۰۴.
18. مرادی، بهروز، مشاک، زهره، آخوندزاده، بستی، افشین، مرادی، بیژن، نوین، عباس. (۱۳۹۰). بررسی اثر اسانس زیره سبز بر روی باکتری *باسیلوس سرئوس* در یک مدل غذایی، فصلنامه گیاهان دارویی، سال ۱۱، ویژه نامه شماره ۸، صفحه ۹۳-۱۰۲.
19. نوری‌زاده، علی، میرزاپور، طاهره، قاسمی، کبری، لطیفی نوید، سارا. (۱۳۸۳). بررسی آثار ضدباکتریایی عصاره‌های نعناع، شربین‌بیان، پونه، بابونه و آویشن بر *هلیکوباکتر پیلوری*. دو ماهنامه علمی پژوهشی دانشور، سال ۱۱، شماره ۵۲، صفحه ۷۰-۶۷.
20. Fereidoni, M., and Akhlaghi, M. 2009. Resistance pattern of *Streptococcus iniae* to antibiotics in rainbow trout. The first international congress on aquatic animal health management and disease, Tehran Iran.

31. Yutaka, Y.S.M., Oikawa, H. 2006. Antimicrobial effect of spices and herbs on *Vibrio parahaemolyticus*. *Int J Food Microbiol.* 111: 6-11.
29. Vuddhakul, V., Bhoopong, P., Hayeebilan, F., Subhadrasakul, S. 2007. Inhibitory activity of Thai condiments on pandemic strain of *Vibrio parahaemolyticus*. *Food Microbiol.* 24: 413-8.
30. Yutaka, Y., Satomi, M., Oikawa, H. 2006. Antimicrobial effect of spices and herbs on *Vibrio parahaemolyticus*. *Int J Food Microbiol.* 111: 6-11.

Archive of SID

Evaluation of antibacterial effects of some plant extracts and essential oils against *Vibrio parahaemolyticus*

Raissy M^{1*}, Daghagheleh A², Alishahi M³, Rahimi M²

1. Department of Aquatic Animal Health, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran.

2. Ahwaz Branch, Islamic Azad University, Ahwaz, Iran.

3. Department of Aquatic Animal Health, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University, Ahwaz, Iran.

*Corresponding author: mehdi.raissy@iaushk.ac.ir

Accepted: 4 August 2015

Received: 14 July 2015

Abstract

In this study the antibacterial effects of ethanolic extract of eight medicinal plants (*Artemisia aucheri*, *Satureja bachtiarica*, *Tanacetum parthenium*, *Cuminum cyminum*, *Salvia officinalis*, *Achillea kellalensis*, *Stachys lavandulifolia*, *Myrtus communis*) and the essential oil of *Satureja bachtiarica*, *Artemisia aucheri*, *Tanacetum parthenium*, *Cuminum cyminum*, *Achillea kellalensis*, *Myrtus communis* on *Vibrio parahaemolyticus* were evaluated. Standard tube dilution method was used for evaluation of Minimum Bactericidal Concentration value (MBC) and Minimum Inhibitory Concentration value (MIC) of each plant. Then inhibitory zone of bacterial growth for each plant was also measured and compared to positive and negative control. The results showed that the extracts of *Satureja bachtiarica* had the highest antibacterial effects on *V. parahaemolyticus* with the inhibitory bacterial growth zone of 15 mm. The extract of *Tanacetum parthenium* and *Cuminum cyminum* were also effective with the inhibitory bacterial growth zone of 14 and 11.67 mm against *V. parahaemolyticus*. Other herbal extract showed no antibacterial effects. The results revealed the higher antibacterial effects of essential oils comparing to the extracts and the highest antibacterial effect were belonged to *Satureja bachtiarica*, *Tanacetum parthenium* and *Cuminum cyminum*. It can be concluded that regarding to high antibacterial effect of *Satureja bachtiarica*, *Tanacetum parthenium* and *Cuminum cyminum*, they can be used in elimination of *V. parahaemolyticus*.

Keywords: Antibacterial effects, plant extract, plant essential oil, *Vibrio parahaemolyticus*.