Archive of SID

مقاله پژوهشی
مجله دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان
دوره ۱۵، خرداد ۱۳۹۵، ۲۲۲-۲۰۹

بررسی آزمایشگاهی اثر ضد باکتریایی عصاره اتیل‌استاتی جلبک دریایی قرمز (*Gelidiella acerosa*) بر برخی باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی

مصطفی غفاری[۱]، علی طاهری[۲]، مریم زبیدی‌نژاد[۳]

دریافت مقاله: ۹٤/۸/۱۸ ارسال مقاله به نویسنده جهت اصلاح: ۹٤/۱۰/٦ دریافت اصلاحیه از نویسنده: ۹۵/۲/٤ پذیرش مقاله: ۹۵/۲/۱۵

چکیده

زمینه و هدف: امروزه افزایش استفاده بی‌رویه از آنتی‌بیوتیک‌ها سبب ایجاد فرم مقاوم باکتری‌ها شده است. لذا یافتن ترکیبات ضد میکروبی فعال زیستی مورد توجه محققان است. هدف از این مطالعه بررسی آزمایشگاهی اثر ضد میکروبی عصاره اتیل‌استاتی جلبک دریایی قرمز (*Gelidiella acerosa*) بر برخی باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه آزمایشگاهی، پس از نمونه‌برداری، عصاره اتیل‌استات جلبک دریایی قرمز در ۴ غلظت ۱۰ تا ۸۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بر روی ۳ گونه باکتری گرم مثبت *Lactoccocus garviae*، *Listeria monocytogenes*، *Staphylococcus aureus* و ۴ گونه باکتری گرم منفی *Escherchia coli*، *Kelbsiella pneumoniae*، *Proteus vulgaris*، *Photobacterium damselae* به روش انتشار نفوذی و با اندازه‌گیری هاله عدم رشد بررسی و نتایج با ۲ آنتی‌بیوتیک استاندارد مقایسه گردید. در این مطالعه آزمون حداقل غلظت بازدارندگی (Minimum Inhibitory Concentration; MIC) به روش رقت‌های متوالی انجام شد. جهت مقایسه میانگین بین گروه‌ها از آنالیز واریانس یک طرفه و جهت مقایسه میانگین گروه‌ها از آزمون دانکن (Duncan) استفاده شد.

یافته‌ها: در این مطالعه، باکتری *K. pneumoniae* حساسیت بیشتری نسبت به عصاره جلبکی با قطر هاله عدم رشد ۱/۳۳±۱۲/۵۰ میلی‌متر در غلظت ۸۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از خود نشان داد، این مقدار دارای اختلاف معنی‌دار با آنتی‌بیوتیک تتراسایکلین و سایر غلظت‌ها بود ($p<۰/۰۵$). اما نسبت به آنتی‌بیوتیک نئومایسین اختلاف معنی‌داری نشان نداد ($p>۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان داد که عصاره اتیل‌استاتی جلبک دریایی قرمز در شرایط آزمایشگاهی اثر بازدارندگی بیشتری بر میکروارگانیسم‌های *K.pneumoniae*، *E.coli*، *L.garviae* و *P.damselae* دارد.

واژه‌های کلیدی: اثر ضد باکتریایی، عصاره اتیل‌استاتی، جلبک دریایی قرمز

۱- (نویسنده مسئول) دانشیار بهداشت و بیماری‌های آبزیان، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، چابهار، ایران
تلفن: ۰۵۴-۳۵۳۲۳۵۷۷، دورنگار: ۰۵۴-۳۵۳۲۳۵۷۷، پست الکترونیکی: mgmostafaghaffari@gmail.com
۲- دانشیار فرآوری محصولات شیلاتی، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، چابهار، ایران
۳- دانشجوی کارشناسی ارشد فرآوری محصولات شیلاتی، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، چابهار، ایران

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

با توجه به محدودیت‌های استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها و افزایش فرم مقاوم میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا، گرایش به جایگزینی آن‌ها با مواد طبیعی و ارزان‌تر را تقویت نموده است. هم‌چنین پتانسیل بالای ضد میکروبی، ضد قارچی و ضد ویروسی ارگانیسم‌های دریایی رویکرد تازه‌ای را برای دستیابی به ضد میکروب‌های جدید موجب شده است. جلبک‌ها منبع غنی از ترکیبات فعال بیولوژیکی به شمار رفته و مهم ترین منابع ترکیبات ضد میکروبی دریایی محسوب می‌شوند [۱].

جلبک‌ها به ۳ شاخه اصلی سبز (Clorophyta)، قهوه‌ای (Phaeophyta) و قرمز (Rhodophyta) تقسیم می‌شوند [۲]. ترکیبات شیمیایی جلبک‌های دریایی به گونه، منطقه جغرافیایی، فصل و درجه حرارت آب وابسته است. جلبک‌های دریایی به طور گسترده‌ای در پزشکی، صنایع غذایی، صنایع شیمیایی و صنایع آرایشی و بهداشتی مورد استفاده قرار می‌گیرند. به منظور استفاده بهتر از جلبک‌های دریایی، محققان در تلاش برای جدا کردن ترکیبات با ارزش از آنها هستند و علاقه رو به رشدی برای پیدا کردن مواد نگه‌دارنده طبیعی برای مواد غذایی و سایر محصولات فاسد شدنی وجود دارد [۳].

علاوه بر این، تحقیقات بر روی جلبک‌های دریایی ماکرو (Macroalgae) نشان داده است که عصاره این گیاهان دریازی قابلیت‌های فراوانی از جمله خواص آنتی‌اکسیدان [۴]، ضد زخم [۵]، ضد سرطان [۶]، ضد قارچ [۷]، آنتی‌پروتوزئوا [۸]، آنتی‌ویروس [۹] و ضد میکروبی [۱۰] دارند.

هم‌چنین، جلبک‌های دریایی به عنوان منبع اصلی در مواد غذایی، رنگدانه‌ها و پلی ساکاریدهای سولفاته شناخته شده‌اند [۱۱]. آن‌ها هم‌چنین حاوی ترکیبات شیمیایی متنوعی از جمله آلکالوئیدها، فلانوئیدها، فنل‌ها، ساپونین، استرول‌ها، تری پنوئیدها، قندها، گلیکوزیدها، کوئین، تانن و رنگدانه‌های فتوسنتزی مانند کلروفیل و کاروتنوئیدها می‌باشند [۱۲]. در مقایسه با گیاهان خشکی‌زی و غذاهای حیوانی، برخی جلبک‌های دریایی سرشار از امگا ۳، اسیدهای چرب ضروری، مواد معدنی، اسیدهای آمینه و ویتامین‌های A، B، C و با خواص ضد میکروبی می‌باشند که می‌توانند رشد برخی از میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا و مخمرها را مهار کنند [۱۱].

تاکنون مطالعات بسیاری در زمینه خواص ضد باکتریایی جلبک‌های دریایی انجام شده است از جمله مطالعاتی در این زمینه بر جلبک‌های قرمز، سبز و قهوه‌ای بر باکتری‌های گرم مثبت، گرم منفی و قارچها توسط Taskin [۱۳]، Osman [۱۴]، Jeynathi Rebecca [۱۵]، Sangeetha [۱۶] و همکاران آن‌ها انجام شده است و نتایج قابل‌توجهی مشاهده شده است. از بین مطالعات انجام شده مطالعه‌ای که توسط El-sheekh و همکاران انجام شد نتایج قابل‌توجهی به دست آمد. در این مطالعه جلبک‌های قرمز مورد مطالعه، بالاترین خواص ضد باکتریایی ثبت‌شده، مربوط به *Sarcodiotheca furcata* در مقابل باکتری گرم منفی *Shigella flexneri* با قطر هاله عدم رشد ۳۳ میلی‌متر بوده است [۱۷].

هم‌چنین در مطالعه‌ای که توسط Chandrasekaran و همکاران در این زمینه انجام شد، از حلال‌های متفاوتی از جمله هگزان، کلروفرم، اتیل‌استات، استون و متانول

www.SID.ir

Archive of SID

استفاده شد و نتایج نشان داد که عصاره اتیل‌استاتی جلبک‌های قهوه‌ای *S.wightii* و *S.marginatum* بالاترین فعالیت ضد باکتریایی را در مقابل *Enterococcus faecalis* از خود نشان دادند [۱۸].

هم‌چنین، Rhimou و همکاران مطالعه‌ای بر روی اثر ضد باکتریایی ۲۶ گونه جلبک دریایی قرمز بر برخی باکتری‌های گرم مثبت و برخی باکتری‌های گرم منفی انجام دادند. عصاره متانولی *H.musciformi* بالاترین حد مهاری را از خود نشان داد. از این ۲۶ گونه جلبک مورد مطالعه، ۲۵ گونه (۹۶٪) فعالیت ضد باکتریایی را نشان دادند. به علاوه، نتایج به دست آمده نشان داد که عصاره‌های جمع‌آوری شده در فصل بهار نسبت به فصل زمستان فعال‌تر بودند [۱۹].

سویه‌های باکتریایی در مطالعه حاضر، باکتری‌های گرم مثبت *Listeria monocytogenes* و *Staphylococcus aureus* به ترتیب عامل مهمی‌از مسمومیت‌های غذایی و عفونت‌های موضعی هم‌چون کورک، آبسه و غیره به صورت التهاب شدید همراه با درد می‌باشد [۲۰]. باکتری *Lactococcus garviae*، باکتری گرم مثبت و عامل اصلی بیماری‌زا در آبزیان محسوب می‌شود و باعث سپتی‌سمی فوق حاد در ماهی‌ها همراه با علائمی چون تیرگی بدن، اگزوفتالمی، شنای غیرعادی، خون‌ریزی در بدن و اطراف چشم می‌باشد [۲۱].

هم‌چنین، باکتری‌های گرم منفی *Escherichia coli*، *Klebsiella pneumoniae*، *Proteus vulgaris*، باسیل‌های گرم منفی روده‌ای می‌باشند و در پزشکی اهمیت دارند [۲۰] و نیز، *Photobacterium damselae* از فراوان‌ترین باکتری‌ها در آب‌های سطحی و شور بوده و همه جا پراکنده است و یکی از عوامل بیماری‌زای ماهی و انسان به حساب می‌آید [۲۲].

سواحل چابهار منبع غنی از جلبک‌های دریایی سبز، قرمز و قهوه‌ای بوده که در فصول مختلف، قابل بهره برداری می‌باشند. جلبک قرمز *Gelidiella acerosa* از جلبک‌های سواحل صخره‌ای جنوب ایران می‌باشد. رنگ جلبک ارغوانی تیره، افراشته، سفت و سیمی است. محل رویش در قسمت‌های میانی محدوده بین جزر و مدی روی سطح بسترهای صخره‌ای و اغلب در مکان‌های کم‌عمق و موج‌خیز است [۲]. متأسفانه در کشور ایران مطالعات کمی در زمینه خواص زیست فعال این منابع ارزشمند صورت گرفته است و مطالعات زیست‌فناوری در این زمینه ضروری می‌باشد. لذا هدف از این مطالعه، بررسی اثرات ضد باکتریایی جلبک قرمز (*Gelidiella acerosa*) سواحل جزر و مدی چابهار در مقابل ۳ گونه باکتری گرم مثبت *Listeria monocytogenes*، *Lactoccocus garviae* و *Staphylococcus aureus* و ۴ گونه باکتری گرم منفی *Escherchia coli*، *Klebsiella pneumonia* ، *Proteus vulgaris* و *Photobacterium damselae* بود.

مواد و روش‌ها

برای انجام این مطالعه آزمایشگاهی، ابتدا نمونه‌برداری از جلبک قرمز *Gelidiella acerosa* (از شاخه Rhodophyceae) در فصل پاییز سال ۱۳۹۳ از منطقه جزر و مدی سواحل چابهار انجام گردید و با همکاری سازمان علوم تحقیقات چابهار شناسایی شد. نمونه‌های جمع‌آوری شده در کیسه‌های نایلونی حاوی مقدار کمی آب دریا نگه‌داری و سپس به آزمایشگاه فرآوری محصولات شیلاتی دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار منتقل

www.SID.ir

Archive of SID

شدند. مقداری از نمونه‌ها نیز جهت شناسایی و تأیید نهایی در یخچال درون کیسه‌های نایلونی در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شد.

ابتدا جلبک‌ها را کاملاً شسته و عاری از شن و ماسه و جانداران اپی‌فیت گردیدند. سپس درون آون با دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت یک روز خشک و توسط آسیاب برقی کاملاً پودر شدند [۲۳].

عصاره‌گیری به روش غوطه‌وری ۱۰ درصد جرمی-حجمی با استفاده از حلال اتیل‌استات (Merck 100864 Germany) به ترتیب زیر انجام پذیرفت. ابتدا ۲۰ گرم از پودر خشک توزین و به ارلن مایر ۲۵۰ سی سی منتقل شد. سپس ۲۰۰ میلی‌لیتر اتیل‌استات به آن افزود شد و پس از تکان دادن به مدت ۴۸ ساعت در تاریکی نگه‌داری گردیدند. هر ۱۶ ساعت محتویات ارلن به مدت ۲۵ دقیقه هم زده شد و در پایان محتویات ارلن به وسیله کاغذ صافی واتمن شماره ۱ (ساخت واتمن انگلستان) صاف و مایع صاف شده در دستگاه تبخیرگر چرخان تحت خلاء (Rotary RE300B شرکت تجهیز گستر ایران) در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد عصاره گیری گردید. ابتدا اپندروف‌ها را به طور جداگانه توزین کرده و پس از آن به مقدار ۱۰، ۲۰، ۴۰، ۸۰ میلی‌گرم عصاره جلبک مورد نظر نیز به طور جداگانه در اپندروف‌های توزین شده، به وسیله ترازوی دیجیتالی (KIA BL 2000) توزین گردید و با ۱ میلی‌لیتر حلال DMSO (Germany Merck 116743) مخلوط گردید. سپس عصارهٔ جلبکی به همراه حلال DMSO به وسیله دستگاه ورتکس (Vortex شرکت دلتا ایران) یکنواخت شد [۲۴]. غلظت‌های ۱۰، ۲۰، ۴۰ و ۸۰ میلی‌گرم/میلی‌لیتر تهیه گردید [۲۵].

سویه‌های باکتریایی مورد استفاده در این پژوهش شامل باکتری گرم مثبت *L.monocytogenes* (PTCC1163)، *S.aureus* (PTCC1431) و *Lactoccocus garvieae* (PTCC No.1403) و هم‌چنین باکتری‌های گرم منفی *E.coli* (PTCC1763)، (GenBank database No.KF529965) *Photobacterium damselae*، *P.vulgaris* (PTCC1182) و *Klebsiella pneumoniae* (PTCC1290) بود که از مرکز کلکسیون قارچ و باکتری ایران (سازمان پژوهش‌های علمی‌و صنعتی ایران) و دامپزشکی شهرستان چابهار خریداری و تهیه شد.

برای بررسی اثرات باکتریایی از آزمون حساسیت ضد میکروبی (تست آنتی‌بیوگرام) به روش اصلاح شده انتشار دیسک و آزمون کمّی حداقل غلظت بازدارنده به روش رقت‌های متوالی استفاده گردید. سوسپانسیون باکتریایی مورد استفاده در آزمون‌های آنتی‌بیوگرام مطابق با استاندارد ۰/۵ مک فارلند از کشت‌های یک روزه شامل Muller-Hinton Agar بود [۲۶].

در روش انتشار دیسک پس از تلقیح باکتریایی (کشت سطحی سوسپانسیون باکتریایی به وسیله سوآب استریل) روی محیط آگار، دیسک‌های آماده بلانک محصول شرکت پادتن طب (ساخت کشور ایران) به فاصله حداقل ۲۵ میلی‌متر از یکدیگر و از لبه پلیت، به وسیله پنس استریل روی سطح محیط کشت Muller-Hinton Agar قرار گرفتند. سپس مقدار ۱۸ میکرولیتر از عصاره استریل با غلظت‌های مشخص روی دیسک بلانک توسط سمپلر چکانده شد. سپس پلیت‌ها را به مدت ۳۰ دقیقه برای پیش انتشار درون یخچال (AL-145RE ساخت کشور ژاپن) با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. بعد از گذشت این زمان، در مرحله بعد پلیت‌ها را به انکوباتور با

www.SID.ir

Archive of SID

دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت منتقل شدند. پس از گذشت ۲۴ ساعت قطر هاله‌های عدم رشد اطراف دیسک توسط کولیس ورنیه دیجیتالی (16EWRi Mahr ساخت آلمان) اندازه گیری و ثبت شد [۲۷].

به منظور کنترل نتایج آزمون از آنتی‌بیوتیک‌های تجاری نئومایسین (Ne 30µg) و تتراسایکلین (Tet30µg) پادتن طب به‌عنوان کنترل مثبت و DMSO به عنوان کنترل منفی استفاده شد. آزمون‌های حساسیت ضد باکتریایی به روش انتشار دیسک با ۳ بار تکرار انجام گردید و از نتایج به دست آمده در هر مرحله میانگین گرفته شد. در این بررسی جهت تعیین حداقل عصاره بازدارنده از روش رقت‌های متوالی در لوله آزمایش برای عصاره جلبکی استفاده شد. برای هر باکتری یک سری لوله آزمایش ۹ تایی استفاده شد که در آن ۷ لوله برای رقت‌های مختلف، یک لوله شاهد مثبت و یک لوله به‌عنوان شاهد منفی در نظر گرفته شد. به لوله‌های آزمایش ۹ میلی‌لیتر محلول آبگوشت مغذی (Nutrient broth) افزوده و استریل شد. بعد از فیلتر کردن عصاره توسط فیلتر میکروبی ۰/۲۲ میکرون، مقدار ۱۰۰۰ میکرولیتر از عصاره به لوله شماره ۱ اضافه شد و بعد از هموژن کردن آن ۱۰۰۰ میکرولیتر از مایع هموژن شده را برداشته و به لوله شماره ۲ منتقل گردید و این کار ادامه یافت و ۱۰۰۰ میکرو لیتر از لوله شماره ۷ دور ریخته شد. به همه لوله‌ها به غیر از شاهد منفی ۲۰ میکرولیتر از کشت رقیق شده در محیط مایع (کشت رقیق شده با کشت استاندارد شده با ۰/۵ مک فارلند) به تمام لوله‌های آزمایش افزوده شد. همه لوله‌ها به مدت ۲۴ ساعت و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. پس از آن لوله‌ها از نظر کدورت ناشی از رشد باکتری‌ها بررسی شدند. آخرین لوله‌ای که هیچ کدورتی در آن دیده نشد به‌عنوان حداقل غلظت ممانعت کنندگی رشد (Minimum Inhibitory Concentration; MIC) در نظر گرفته شد. از همه لوله‌های فاقد کدورت رشد جهت تعیین (Minimum Bactericidal Concentration; MBC) حداقل غلظت کشندگی عصاره جلبک *Gelidiella acerosa* به روش پورپلیت کشت داده شد و آخرین غلظتی از عصاره که قادر به مرگ ۹۹/۹ درصد از باکتری‌های اولیه بود به‌عنوان حداقل غلظت کشندگی میکروارگانیسم‌ها در نظر گرفته شد. کلیه آزمایش‌ها در ۳ بار تکرار صورت گرفت [۲۸].

به منظور تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۲۱ استفاده گردید. داده‌های حاصل از ۴ غلظت متفاوت از عصاره اتیل‌استاتی جلبک دریایی قرمز بر برخی باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی مورد بررسی با ۳ تکرار، با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه (One-way ANOVA) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. همچنین برای بررسی اختلاف میانگین زوج گروه‌ها از آزمون دانکن (Duncan) در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ استفاده شد.

نتایج

نتایج تست آنتی‌بیوگرام در جدول ۱ آورده شده است. عملکرد ضد باکتریایی عصاره اتیل‌استاتی جلبک دریایی قرمز بر باکتری‌های گرم منفی *Escherichia coli*، *Klebsiella pneumoniae* وابسته به غلظت بوده و با افزایش غلظت عصاره افزایش معنی‌داری در فعالیت ضد باکتریایی مشاهده شده است. در این مطالعه آزمایشگاهی در روش انتشار دیسک در آگار باکتری گرم منفی *Klebseilla pneumoniae* حساسیت بیشتری نسبت به

www.SID.ir

Archive of SID

عصاره جلبکی، با قطر هاله عدم رشد ۱۲/۵۰±۱/۳۳ میلی‌متر در غلظت ۸۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از خود نشان داد که در مقایسه با نتایج آنتی‌بیوتیک نئومایسین، عصاره جلبکی از تأثیر نسبتاً بالایی برخوردار می‌باشد. در صورتی که در مقایسه با نتایج آنتی‌بیوتیک تتراسایکلین، اختلاف معنی‌داری را از خود نشان داد ($p<0/05$). هم‌چنین نتایج اثرات ضد باکتریایی عصاره اتیل‌استاتی جلبک مورد مطالعه بر باکتری *E.coli* نیز اختلاف معنی‌داری با آنتی‌بیوتیک‌های تتراسایکلین و نئومایسین از خود نشان داد. عصاره اتیل‌استاتی جلبک دریایی قرمز *Gelidiella acerosa* هیچ تأثیری بر باکتری‌های *Stapylococcus aureus*، *Listeria monocytogens* و *Proteus vulgaris* از خود نشان نداد. هم‌چنین، باکتری‌های اخیر نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های استاندارد تتراسایکلین و نئومایسین مقاوم بودند. بر اساس نتایج، عصاره اتیل‌استاتی جلبک *Gelidiella acerosa* روی باکتری‌های *Photobacterium damselae* و *Lactococcus garviae* بیشترین قطر هاله عدم رشد را در غلظت ۴۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر نشان داد ($p>0/05$) که به ترتیب معادل ۹/۵۰±۱/۳۲ و ۹/۶۶±۰/۵۷ میلی‌متر بود (جدول ۱).

جدول ۱- مقایسه میانگین قطر هاله عدم رشد (بر حسب میلی‌متر) برخی باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی و آنتی‌بیوتیک‌های استاندارد در حضور عصاره اتیل‌استاتی جلبک Gelidiella acerosa

باکتری / عصاره جلبک	*S.aureus* Gr+	*P.damselae* Gr-	*K.pneumoniae* Gr-	*P.vulgaris* Gr-	*E.coli* Gr-	*L.monocytogenes* Gr+	*L.garviae* Gr+
غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر	–	^{c}۷/۶۶±۰/۷۶	^{e}۶/۵۶±۰/۶۰	–	^{b}۸/۱۶±۱/۶۰	–	^{c}۷/۲۳±۰/۶۸
غلظت ۲۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر	–	^{c}۷/۸۳±۱/۲۵	^{d}۷/۹۰±۰/۶۵	–	^{b}۹/۶۰±۱/۶۳	–	^{c}۷/۹۶±۰/۳۵
غلظت ۴۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر	–	^{b}۹/۵۰±۱/۳۲	^{c}۱۰/۱۶±۰/۷۶	–	^{b}۱۰/۵۶±۲/۱۱	–	^{b}۹/۶۶±۰/۵۷
غلظت ۸۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر	–	^{bc}۸/۵۰±۰/۵۰	^{b}۱۲/۵۰±۱/۳۳	–	^{b}۱۰/۲۳±۲/۴۲	–	^{b}۹/۵۶±۰/۷۵
آنتی‌بیوتیک تتراسایکلین	–	^{a}۱۷/۱۶±۰/۲۸	^{a}۲۸/۲۳±۰/۲۵	–	^{a}۱۳/۷۵±۱/۸۰	–	^{b}۱۰/۵۰±۰/۵۰
آنتی‌بیوتیک نئومایسین	–	^{a}۱۷/۲۳±۰/۲۵	^{b}۱۲/۳۳±۰/۲۸	–	^{a}۱۴/۱۶±۰/۲۸	–	^{a}۱۶/۲۳±۰/۲۵

داده‌های جدول به صورت انحراف معیار ± میانگین گزارش شده است.

- ***علامت (-) نشان دهنده عدم وجود فعالیت ضد باکتری عصاره اتیل‌استاتی جلبک دریایی قرمز می‌باشد.***
- ***حروف غیرمشابه در ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار میان اثر ضد میکروبی در غلظت‌های مختلف می‌باشد.***

www.SID.ir

Archive of SID

. نتایج با استفاده از روش آنالیز واریانس یک طرفه (One-way ANOVA)تجزیه و تحلیل گردید. هم‌چنین برای بررسی اختلاف میانگین زوج گروه‌ها از آزمون دانکن (Duncan) در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ استفاده شد.

هم‌چنین در مورد باکتری *E.coli*، بیشترین قطر هاله عدم رشد مربوط به غلظت ۴۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر با قطر هاله عدم رشد ۲/۱۱±۱۰/۵۶ میلی‌متر بود که در مقایسه با آنتی‌بیوتیک‌های استاندارد تتراسایکلین و نئومایسین دارای اختلافی معنی‌دار ($p<0/05$)، اما در سایر غلظت‌ها فاقد اختلاف معنی‌دار بود (جدول ۱).

هم‌چنین، حداقل غلظت ممانعت‌کنندگی (MIC) عصاره اتیل‌استاتی جلبک دریایی قرمز *Gelidiella acerosa* برای باکتری‌های مورد آزمون ۰/۰۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر مشاهده شد. در باکتری‌های *Staphylococcus aureus*، *Listeria monocytogens* و *Proteus vulgaris* نیز مقدار حداقل غلظت ممانعت‌کنندگی، ۰/۰۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر مشاهده شد. همان‌گونه که در جدول ۱ مشاهده می‌شود در روش انتشار دیسک در آگار، باکتری‌های *S.aureus*، *P.vulgaris* و *L.monocytogens* مقاوم بودند و هاله عدم رشدی مشاهده نشد اما حداقل غلظت مهارکنندگی ۰/۰۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر را از خود نشان دادند. هم‌چنین حداقل غلظت کشندگی (MBC) عصاره اتیل‌استاتی جلبک دریایی قرمز *Gelidiella acerosa* بر تمام باکتری‌های مورد آزمون ۰/۰۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود.

بحث

مصرف روز افزون داروهای شیمیایی باعث ایجاد خودایمنی و عوارض جانبی دیگر می‌گردد که از خود بیماری خطرناک‌تر است [۲۹]. امروزه به دلیل تغییر فرم مقاومتی باکتری‌های بیماری‌زا و مقاوم شدن آن‌ها به آنتی‌بیوتیک‌های معمول، گرایش به سمت جایگزینی آن‌ها با آنتی‌بیوتیک‌های نوین می‌باشد [۳۰]. جلبک‌های دریایی متابولیت‌های ثانویه‌ای تولید می‌کنند که در گیاهان خشکی‌زی وجود ندارد [۳۱]. در سال‌های اخیر، فرآورده‌هایی با منشاء گیاهی که دارای اثر ضد میکروبی می‌باشند، به شدت مورد توجه قرار گرفته‌اند [۳۲].

در این مطالعه عصاره اتیل‌استاتی جلبک دریایی قرمز *Gelidiella acerosa*، بیشترین تأثیر را بر باکتری *Klebsiella pneumoniae* از خود نشان داد. تأثیر مثبت عصاره جلبکی بر *Escherchia coli*، *Photobacterium damsella* و *Lactoccocus garviae* نیز به خوبی در غلظت ۴۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر مشاهده شد. باکتری‌های *L.monocytogenes*، *Proteus vulgaris* و *S.aureus* نیز نسبت به عصاره جلبکی مقاوم بودند و هاله عدم رشد مشاهده نشد.

نتایج مطالعه Kandhasamy و همکارش نشان داد عصاره متانولی جلبک قرمز *Gracillaria folifera* هیچ اثر بازدارندگی روی رشد *E.coli* ندارد [۲۴]؛ در صورتی که در تحقیق حاضر، عصاره اتیل‌استات جلبک مورد نظر بر روی این باکتری اثر بازدارندگی نسبتاً خوبی را در غلظت‌های مختلف نشان داد که در این مورد می‌توان گونه جلبک، روش عصاره‌گیری و فصول سال را مؤثر دانست [۳۳].

هم‌چنین نتایج به‌دست آمده در ارتباط با اثر عصاره اتیل‌استاتی جلبک‌های قرمز *Gelidiella acerosa* در عدم

www.SID.ir

Archive of SID

رشد باکتری *S.aureus* با بررسی انجام شده توسط Bouhla و همکاران بر روی خواص ضد باکتریایی جلبک‌های قرمز *Gelidiella attenatum*، *Gelidiella spinullosum* و *Hypneme muciformis*، مطابقت نداشت [۳۴]. در تحقیق فوق، بالاترین قدرت مهاری عصاره متانولی جلبک‌های قرمز روی باکتری‌های مورد مطالعه، مربوط به *S.aureus* بوده است در حالی که در مطالعه حاضر هیچ فعالیت مهاری بر روی این باکتری مشاهده نشد که در این رابطه، مقاومت باکتریایی و فعالیت متابولیکی جلبک و گونه جلبک را می‌توان مؤثر دانست. تنوع در فعالیت ضد باکتریایی را می‌توان به روش استخراج، حلال و فصلی که در آن نمونه‌ها جمع‌آوری شده‌اند، نیز نسبت داد.

Rosalin و همکاران از متاتول، اتیل‌استات، استون و هگزان برای عصاره‌گیری استفاده کردند. نتایج بررسی آنها نشان داد که عصاره استونی به دست آمده از جلبک‌های مورد نظر اثر ضد باکتریایی بیشتری نسبت به عصاره‌های دیگر دارد [۳۵]. Lavanya و همکارش نشان دادند که برخی از ترکیبات فعال از جمله ترکیبات نیتروژنی عصاره جلبکی، توسط حلال اتیل‌استات فعالیت مهاری کمی بر برخی پاتوژن‌ها دارد [۳۶].

Salem و همکاران اثر ضد باکتریایی عصاره متانولی و اتیل‌استاتی ۸ گونه از جلبک‌های دریایی را مورد بررسی قرار دادند و نتیجه گرفتند که عصاره متانولی نسبت به اتیل‌استات تأثیر بیشتری دارد [۳۷]. Varier و همکاران برای عصاره‌گیری از اتانول، متانول و کلروفرم استفاده کرده و بیان کردند که در بین این حلال‌ها، عصاره متانولی بهترین نتایج را برای هر دو باکتری گرم مثبت و گرم منفی نشان می‌دهد [۳۸].

با وجودی که حلال اتیل‌استات در مطالعات انجام شده قدرت مهاری کمی داشت اما در مطالعه حاضر نتایج نسبتاً خوبی حاصل گردید که با نتایج مطالعات Omar و همکاران مطابقت نداشت. در تحقیق مذکور، حداکثر فعالیت بیولوژیکی عصاره اتیل‌استات جلبک سبز *Entermorpha prolifera* در برابر MRSA (Methicillin Resistant *Staphyliococcus Arueus*) با قطر هاله عدم رشد ۲۵ میلی‌متر بود که به دلیل حضور بسیاری از ترکیبات فعال از جمله هیدروکسیل اسیدهای چرب، گلیکولیپید، استروئیدها، فنولیک و ترپنوئیدها می‌باشد [۳]. در صورتی که در مطالعه حاضر باکتری مذکور مقاوم بود و در مقابل عصاره جلبک دریایی قرمز هیچ فعالیتی از خود نشان نداد.

Peymani و همکاران اثر ضد باکتریایی و ضد قارچی جلبک قرمز *Gracillaria arcuata* جمع‌آوری شده از سواحل چابهار را بر برخی پاتوژن‌های بیماری‌زا مورد مطالعه قرار دادند.

در بررسی آن‌ها از اتانول جهت عصاره گیری استفاده شد که در پایان نتایج خوبی را علیه هر دو باکتری گرم مثبت *S.aureus* (PTCC1431)، *L.monocytogenes* (PTCC1163) و گرم منفی، *P.vulgaris* (PTCC1182) و *V.cholerae* از خود نشان داد. اما اثر آن بر باکتری گرم منفی *E.coli* (PTCC1763) نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های استاندارد کمتر بود [۳۹]. بر خلاف انتظار، در تحقیق حاضر عصاره اتیل‌استاتی علیه باکتری *E.coli* نتایج نسبتاً خوبی را در پی داشت و نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های تجاری اختلاف معنی‌داری از خود نشان داد که برای این اختلاف

www.SID.ir

Archive of SID

می‌توان روش عصاره‌گیری و فصل جمع‌آوری نمونه جلبکی را مؤثر دانست.

در مورد حداقل غلظت کشندگی در مطالعه حاضر باید عنوان نمود با توجه به پیش تیمار انجام شده جهت خشک کردن عصاره به دست آمده، مشخص شد بر خلاف روش‌های معمول برای خشک کردن عصاره گیاهان دارویی خشکی‌زی، انجام تیمار گرمایی می‌تواند خاصیت ضد باکتریایی جلبک‌های دریایی را کاهش دهد که این مسئله شاید به دلیل شکستن ساختار بیوشیمیایی ماده فعال ضد باکتری عصاره در اثر تیمار گرمایی باشد. بر این اساس عصاره جلبک را بدون خشک کردن و تنها با استفاده از فیلتر میکروبی ۰/۲۲ میکرون و تلقیح با محیط کشت مایع (broth Nutrient) از نظر حداقل غلظت کشندگی مورد بررسی قرار گرفت [۴۰] و مشخص شد با افزایش غلظت عصاره، تعداد کلنی باکتریایی به شدت کاهش یافت به طوری که در باکتری‌های *P.damselae*، *K.pneumoniae*، *E.coli* و *L.garviae* در غلظت ۰/۰۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر کلنی باکتریایی مشاهده نشد. بر این اساس در صورتی که امکان خشک کردن عصاره با روشی غیر از تیمار گرمایی، مانند خشک کردن تحت خلاء، صورت گیرد، میزان حداقل کشندگی قابل بررسی دقیق‌تر خواهد بود [۴۰].

محدودیت مهم در این مطالعه، کار با میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا بود که این امر با در نظر گرفتن شرایط ایمنی مرتفع گشت. در این مطالعه آزمایشگاهی اثر ضد میکروبی جلبک دریایی قرمز بررسی گردید تا بتوان اطلاعات کامل‌تری از خواص یک گونه از جلبک‌های دریایی را فراهم آورد. لذا پیشنهای می‌شود در مطالعات آتی درباره اثر ضد میکروبی جلبک مورد مطالعه بر گونه‌های بیشتری از میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا و مقایسه اثر ضد میکروبی عصاره‌های حاصل از روش‌های مختلف عصاره‌گیری بررسی شود. در ادامه لازم است مطالعات بیشتری در شرایط آزمایشگاه انجام شود و به شناسایی و خالص‌سازی ترکیبات ضد باکتریایی مؤثر پرداخت. بر همین اساس پیشنهاد می‌شود با استفاده از انواع دیگر حلال‌ها مانند استون، متانول، هگزان و کلروفرم برای عصاره‌گیری، فعالیت ضد باکتریایی این جلبک مورد مطالعه بیشتر قرار گیرد.

نتیجه‌گیری

با توجه با نتایج به دست آمده، می‌توان گفت که افزایش غلظت عصاره اتیل‌استاتی جلبک دریایی قرمز *Gelidiella acerosa*، اثر بیشتری بر باکتری‌های *K.pneumoniae* و *L.garviae* دارد. هم‌چنین مشاهده شد عصاره اتیل‌استاتی جلبک مورد مطالعه بر باکتری‌های *K.pneumoniae* و *L.garviae* عملکردی مشابه به آنتی‌بیوتیک نئومایسین و تتراسایکلین از خود نشان داد که می‌توان با تحقیقات بیشتر جایگزینی برای برخی از آنتی‌بیوتیک‌های معمولی باشد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان از دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار به جهت تسهیل در دسترسی به امکانات آزمایشگاهی و آقای مهندس زاد عباس شاه‌آبادی کارشناس محترم آزمایشگاه دانشکده علوم دریایی این دانشگاه به خاطر همکاری علمی تشکر و قدردانی می‌نمایند.

www.SID.ir

Archive of SID

References

[1] Silva GC, Albuquerque-Costa R, Oliveira-Peixoto JR, Pessoa-Nascimento FE, Macedo-Carneiro PB, Fernandes-Vieira RHS. Tropical Atlantic marine macroalgae with bioactivity against virulent and antibiotic resistant Vibrio. *Lat Am J Aquat Res* 2013; 41(1): 183-8.

[2] Qaranjic BM, Rouhani Qadikalaee K. Atlas of Marine algae of Persian Gulf and Oman Sea coasts. Tehran: Ira. Ins. Fisheries Research, Scientific Information Management. 2009 [Farsi]

[3] Omar HH, Shiekh HM, Gumgumjee NM, El-kazan MM, El-Gendy AM. Antibacterial activity of extracts of marine algae from the Red Sea of Jeddah, Saudi Arabia. *Afr J Biotechnol* 2012; 11(71): 13576-85.

[4] Lekameera RV, Somasundaram S. Evaluating antioxidant property of brown alga Colpomenia sinuosa(DERB. ET SOL). *Afr J Food Sci* 2008; 2: 126-30.

[5] Mori J, Hayashi T, Iwashima M, Matsunaga T, Saito H. Effects of plastoquinones from the brown algae Sargassum micracanthum and a new chromene derivative converted from the plastoquinons on acute gastric lesions in rats. *Bio pharm Bull* 2006; 29: 1197-201.

[6] Ly B, Buu N, Nhut N, Thinh P, Van T. Studies on fucoidan and its production from vietnamese brown seaweeds. *Asean J Sci Tech Dev* 2005; 22: 371-80.

[7] Zheng Y, Chen Y, Lu H. Screening for antibacterial and antifungal activites in some marine algae from the fujian coast of china with threedifferent solvents. *Chin J Oceanol Limnol* 2001; 19: 327-31.

[8] Genovese G, Tredone L, Hamann M, Morabito M. The mediterranean red alga Asparagopsis: A source of compounds against Leishmania. *Mar Drugs* 2009; 7: 361-6.

[9] Zandi k, Salimi M, Sartavi K. In vitro antiviral activity of the red marine alga from persian Gulf, Gracilaria salicornia against herpes simplex virus type2. *J Biol Sci* 2007; 7: 1274-7.

[10] Nagayama K, Iwamura Y, Shibata T, Hirayama I, Nakamura T. Bactericidal activity of Phlorotannins from the brown alga Ecklonia kurome . *J anti chem* 2002; 50: 889-93.

[11] Mendez M, Pereira R, Sousa Pinto I, Carvalho A, Gomes A. Antimicrobial activity and lipid profle of seaweed extracts from the North Portuguese Coast. *Int F Res J* 2013; 20(6): 3337-45.

www.SID.ir

Archive of SID

[12] Seenivasan R, Rekha M, Indu H, Geetha S. Antibacterial activity and phytochemical analysis of selected Seaweeds from Mandapam Coast, India. *J App phar Sci* 2012; 2(10): 159-69.

[13] Taskin E, Ozturk M, Kurt O. Antibacterial activities to some marine algae from the Aegean Sea (Turkey). *Afr J Biotechnol* 2007; 6(24): 2746-51.

[14] Osman M, Abushady A, Elshobary M. In vitro screening of antimicrobial activity of extracts of some macroalgae collected from Abu-Qir Bay, Alexandria, Egypt. *Afr J Biotechnol* 2010; 9(12): 7203-8.

[15] Jeynathi Rebecca L, Dhanalakshmi V, Sharmila S. Effect of the extract of Ulva sp on pathogenic microorganisms. *J Che Phar Res* 2012; 4(11): 4875-8.

[16] Sangeetha S, Dhayanithi NB, Sivakumar N. Antibacterial activity of *Sargassum longifolium* and *Gracilaria corticata* from Gulf of Mannar against selected common shrimp pathogens. *Int J phar Bio Sci* 2014; 5(2): 76-82.

[17] El-Sheekh MM, Gharieb MM, El-Sabbagh SM, Hamza WT. Antimicrobial Efficacy of some marine Macroalgae of Red Sea. *Int J Micr Imm Res* 2014; 3(3): 21-8.

[18] Chandrasekaran M, Venkatesalu V, Raj GA. Antibacterial activity of selected Marine Macro algae against Vancomycin resistant Enterococcus faecalis. *J Coa Li Medi* 2014; 2(12): 940-6.

[19] Rhimou B, Hassane R, Jose M, Nathalie B. The antibacterial potential of the seaweeds (Rhodophyceae) of the Strait of Gibraltar and the Mediterranean Coast of Morocco. *Afr J Biotechnol* 2010; 9(38): 6365-72.

[20] Brooks GF, Corroll K, Butel JS, Morse S A. Jawetz Melnick and Adelberg's Medical microbiology 2007: 24 th Edition.

[21] Rafiee pour A, Mirzargar SS, Soltani M, Mousavi HAE, Mostafavi SA. The antibacterial Effects of Cuminum cyminum L. and Rosmarinus officinalis Extracts and Essential Oil against Loctococcus garvieae in Laboratory conditions on Rainbow Trout. *Eur J Exper Bio* 2014; 4(1): 456-63.

[22] Fouz B, Larse JL, Nielsen B, Barja JL, Toranzo AE. Characterization of Vibrio damsela strains isolated from Turbot Scophthalmus maximus in Spain. *Dis Aqu Org* 1992;12: 155-66.

[23] Elnabris KJ, Elmanama AA, Chihadeh WN. Antibacterial activity of four marine seaweeds collected from the coast of Gaza Strip, Palestine. *Mesopot J Mar Sci* 2013; 81-92.

[24] Kandhasamy M, Arunachalam KD. Evaluation of in vitro antibacterial property of seaweeds of southeast coast of India. *Afr.J. Biotechnol*2008; 7(12): 1958-61.

www.SID.ir

Archive of SID

[25] Taheri A, Seyfan A, Jalalinezhad S, Nasery F. Antibacterial Effect of Myrtus communis Hydro-Alcoholic Extract on some Pathogenic Bacteria. *Zah J Res Medi Sci* 1391; 47-53. [Farsi]

[26] Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS. Bailey & Scott`s Diagnostic Microbiology. 12th ed. Missouri, Mosby 2007.

[27] 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. *Int J Pharm Phar Sci* 2012; 143-9.

[28] Nagi M, Tanabe K, Takano Y, Kikuchi K, Miyazaki Y, Niimi M. Serum or bile affects the in vitro azole susceptibilities of Candida spp. *Jpn J Infect Dis* 2009; 62: 306–8.

[29] Mimica-Dukie N, Bugarin D, Grbovic S, Mitic-Culafic D, Vukovic-Gacic B, Orcic D, et al. Essential oil of Myrtus communis L. as a potential antioxidant and antimutagenic Agents. *Molecu* 2010;15: 2759-70.

[30] Gonzalez del val A, Platas G, Basillio A, Cabello A, Gorrochategui J, Suay I, et al. Screening of antimicrobial activities in red, green and brown macroalgae from Gran Canaria (Canary Island, Spain). *Int Microbiol* 2001; 4: 35-40.

[31] Blunt JW, Copp BR, Munro MHG, Northcote PT, Prinsep MR. Marine natural products. *Natur Prod Report* 2006;23: 26-78.

[32] Immanuel G, Vincybai VC, Sivaram V, Palavesam A, Marian MP. Effect of butanolic extracts from terrestrial herbs and seaweeds on the survival, growth and pathogen (*Vibrio parahaemolyticus*) load on shrimp *Penaeus indicus* juveniles. *Aqu* 2004; 236(1-4): 53-65.

[33] Taskin E, Caki Z, Ozturk M, Taskin E. Assessment of in vitro antitumoral and antimicrobial activities of marine algae harvested from the eastern Mediterranean sea. *Afr J biotechnol* 2010; 9(27): 4272-7.

[34] Bouhla R, Riadi H, Martínez J, Bourgougnon N. The antibacterial potential of the seaweeds (Rhodophyceae) of the Strait of Gibraltar and the Mediterranean Coast of Morocco. *Afr J Bio* 2010; 9(38): 6365-72.

[35] Rosaline X, Sakthivelkumar S, Rajendran Ks, Janarthanan S. Screening of Selected marine algae from the Coastal Tamil Nadu, South India for Antibacterial Activity . *Asi Paci J Tro Biom* 2012; 140-6.

[36] Lavanya R, Veerappan N. Antibacterial Potential of Six Seaweeds Collected from Gulf of Mannar of Southeast Coast of India. *Adv Bio Res* 2011; 5(1): 38-44.

www.SID.ir

Archive of SID

[37] Salem WM, Galal H, Nasr El-deen F. Screening for antibacterial activities in some marine algae from the red sea (Hurghada, Egypt). *Afr J Micro Res* 2011; 5(15): 2160–7.

[38] Varier KM, Milton MCJ, Arulvasu C, Gajendran B. Evaluation of antibacterial properties of selected red seaweeds from Rameshwaram, Tamil Nadu, India. *J Acad Indus Res* 2013; 667-70.

[39] Peymani J, Qaraee A, Ghaffari M, Taheri A. Investigation of antibacterial and antifungal Effect of marine alga Gacialria arcuata from Chabahar Coasts. *J Q uni med sci* 2014; 8(1): 69-76. [Farsi]

[40] Peymani J, Qaraee A, Ghaffari M, Taheri A. Investigation of antibacterial Effect of aqueous and ethanolic extract of brown alga Sargassum glaucescens from Chabahar Coasts. *Sci J Ira Fi* 2014; 22(4): 13-21. [Farsi]

www.SID.ir

Archive of SID

In vitro Evaluation of Antibacterial Effect of Ethyl Acetate Extract of Red Algae (*Gelidiella acerosa*) on Some Gram-positive and Gram-negative Bacteria

M. Ghaffari[1], A. Taheri[2], M. Zobeidinezhad[3]

Received:09/11/2015 Sent for Revision: 27/12/2015 Received Revised Manuscript: 23/04/2016 Accepted: 04/05/2016

Background and Objectives: Nowadays, the excessive use of antibiotics has caused bacteria to develop new resistant forms, so that discovering bioactive antimicrobial compounds has been considered by researchers. The aim of this study was to evaluate the antibacterial effect of ethyl acetate extract of red algae (*Gelidiella acerosa*) on some gram-positive and gram-negative bacteria in laboratory conditions.

Materials and methods: In this *in vitro* study, 4 different concentrations of 10-80 mg/ml of ethyl acetate extracts were tested on 3 strains of gram-positive bacteria (*Lactoccocus garviae*، *Listeria monocytogenes* ,and *Staphylococcus aureus*) and 4 strains of gram-negative bacteria (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*، *Proteus vulgaris,* and *Photobacterium damselae*), using disc diffusion technique and measuring growth inhibition zone. The results were compared with two standard antibiotics. In this study, minimum inhibitory concentration (MIC) test was conducted using serial dilutions method. One-way ANOVA was used to compare the mean differences among the different groups, and Duncan's test was used to determine the mean differences between pairs of groups.

Results: In this study, *K. pneumoniae bacteria* showed more sensitivity against algae extract with a growth inhibition zone diameter of 12.50±1.33 mm at concentration of 80 mg/ml, which was significant ($p<0.05$) compared to the tetracycline antibiotic and the other concentrations, although it was not significant compared to the neomycin antibiotic ($p>0.05$).

Conclusion: The results of this study showed that the ethyl acetate extract of red algae (*Gelidiella acerosa*) , in laboratory conditions, has greater antibacterial effect on *K. pneumoniae, E. coli, L. garviae* and *P. damsella microrganisms*.

Keywords: Antibacterial effect, Ethyl acetate extract, Red algae

Funding: This study was partially funded by Chabahar University of Maritime and Marine Sciences.

Conflict of interests: None declared.

Ethical Approval: The Ethics Committee of Chabahar University of Maritime and Marine Sciences approved the study.

How to cite this article: 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 *J Rafsanjan Univ Med Sci* 2016; 15(3): 209-22. [Farsi]

1- Associated Prof., of Aquatic Health and Diseases, Faculty of Marine Sciences, Chabahar Maritime University, Chabahar, Islamic Republic of Iran
(Corresponding Author) Tel: (054) 35323577, Fax: (054) 35323577, Email: mgmostafaghaffari@gmail,com
2- Associated Prof., of Fisheries Products Processing Faculty of Marine Sciences, Chabahar Maritime University, Chabahar, Islamic Republic of Iran
3 -MSc Student of Fisheries Products Processing, Faculty of Marine Sciences, Chabahar Maritime University, Chabahar, Islamic Republic of Iran

www.SID.ir