

مطالعه اثر ضد میکروبی برخی از عصاره های گیاهی روی رشد اشریشیا کلی جداشده از موارد کلی باسیلوز طیور

مجید غلامی آهنگران^{۱*}، عبدالله قاسمی پیربلوطی^۲، مازیار فراست^۳، خشایار فصیحی^۳

۱- استادیار گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، شهرکرد، ایران

۲- استادیار مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، شهرکرد، ایران

۳- دانش آموخته دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، شهرکرد، ایران

تاریخ پذیرش: ۲۸ اردیبهشت ۱۳۹۳

تاریخ دریافت: ۲۶ فروردین ۱۳۹۳

چکیده

به منظور بررسی اثر ضد باکتریایی برخی از عصاره های گیاهی شامل: آویشن شیرازی، آویشن دنايي، ختمی و گزنه، از اشریشیاکلی جدا شده از موارد کلی باسیلوز طیور که نسبت به تمام آنتی بیوتیک های انروفلوکساسین، سولفادیمیدین-تری متوپریم، فلورفنیکل، جنتامایسین و فلومکوئین حساسیت داشت، استفاده گردید. پس از عصاره گیری از گیاهان مذکور، حساسیت ضد میکروبی غلظت های مختلف عصاره ها (۱۰۰، ۵۰، ۲۵، ۱۲/۵ و ۶/۲۵) به روش انتشار دیسک مورد سنجش قرار گرفت. علاوه بر عصاره های گیاهی از پروپیلن گلیکول (به عنوان کنترل منفی) و از انروفلوکساسین، سولفادیمیدین-تری متوپریم، فلورفنیکل به عنوان آنتی بیوتیک های متداول (کنترل مثبت) جهت مقایسه استفاده شد. بیشترین قطر هاله عدم رشد اشریشیاکلی در تیمار فلورفنیکل و غلظت های ۱۰۰ و ۵۰ درصدی عصاره آویشن شیرازی و دنايي مشاهده شد. غلظت های ۱۰۰ درصد و ۵۰ درصد گزنه و ختمی همانند سولفادیمیدین-تری متوپریم و انروفلوکساسین هاله عدم رشد ایجاد کردند. به طور کلی نتایج نشان داد آویشن شیرازی، آویشن دنايي، گزنه و ختمی دارای درجاتی از خاصیت ضد باکتریایی می باشند و می توانند به عنوان یک جایگزین برای آنتی بیوتیک های تجاری در بیماری کلی باسیلوز طیور مطرح باشند، لذا لازم است مطالعات تکمیلی فیتوشیمیایی در این خصوص انجام شود.

کلمات کلیدی: آویشن شیرازی، آویشن دنايي، ختمی، گزنه، اشریشیاکلی، طیور

* نویسنده مسئول: مجید غلامی آهنگران

آدرس: استادیار گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، شهرکرد، ایران. تلفن: ۰۳۸۱۳۳۶۱۰۶۰

پست الکترونیک: mgholamia@yahoo.com

مقدمه

آلودگی به *اشرشیا کلی* می تواند در طیور سبب ایجاد بیماری کلی باسیلوز گردد که با چهره های گوناگونی ظاهر می شود.

کلی باسیلوز یکی از بیماری های عفونی شایع در پرندگان است که سالانه خسارت های هنگفتی را به صنعت طیور در سراسر دنیا وارد می کند. این بیماری از لحاظ اقتصادی با ایجاد تلفات، کاهش شاخص های رشد و آلودگی لاشه های طیور یکی از بیماری های مهم طیور به شمار می رود (۱۴). چندین دهه از مصرف آنتی بیوتیک ها جهت کنترل و درمان بیماری های عفونی از جمله کلی باسیلوز می گذرد، ولی به دلیل استفاده پیوسته و نابجا از این گونه مواد به مرور زمان گونه های مقاوم در برابر آنتی بیوتیک ها بوجود آمده که درمان بیماری های عفونی را با مشکل مواجه کرده اند (۳). گسترش رو به رشد این قبیل مقاومت های دارویی باعث شده است تا محققین به دنبال داروهای مناسبی باشند که علاوه بر ممانعت از رشد باکتری ها، اثرات سمی و عوارض جانبی کمتری داشته باشد (۴ و ۱۱). به همین علت گیاهان دارویی به خصوص گیاهانی که در طب سنتی و متون علمی به خواص ضد میکروبی آنها اشاره شده است مورد توجه قرار گرفته اند (۳، ۴ و ۱۱). از طرفی، با توجه به استقبال روزافزون به مصرف مرغ و تخم مرغ ارگانیک، بهره گیری از ترکیباتی که بدون ایجاد مقاومت و بقایای آنتی بیوتیکی و نیز مسمومیت ناشی از مصرف، بتوانند به خوبی خاصیت ضد میکروبی نشان دهند می تواند به عنوان یک جایگزین تجاری در صنعت طیور مورد استفاده قرار گیرد.

ختمی، گیاهی دارویی با نام علمی *Althea officinalis* از خانواده *Malvaceae* می باشد. مواد موثر موجود در ختمی شامل مواد نشاسته ای، چربی،

اسانس، آنتوسیانین، آل نئین، دی اکسی بنزوئیک اسید و سیانیدین می باشد. خواص درمانی ختمی مربوط به برگ و گل آن می باشد به طوری که گل این گیاه در درمان ناراحتی های تنفسی مثل آسم، برونشیت و سرفه به کار می رود. همچنین در عفونت های ریوی بسیار کمک کننده است. برگ این گیاه در برطرف کردن دمل ها، ورم پستان و ورم معده موثر است (۴، ۵ و ۱۱).

گزنه، گیاهی با نام علمی *Urtica dioica* و از خانواده *Urticaceae* می باشد. از بین واریته های مختلف این گیاه، دو واریته ی *U. dioica* و *U. urens* به عنوان گیاهان دارویی از زمان قدیم مورد توجه بودند. مواد موثره موجود در گزنه شامل تانن، موسیلاژ، نیترات پتاسیم و کلسیم، ترکیبات آهن دار، اوریتسین، ویتامین C، اسید فرمیک، اسید فنولیک، آلومینیوم، منیزیم و غیره می باشد. گزارش های متنوعی از کاربرد و مصرف گزنه در کنترل دیابت، سرطان پروستات، التهاب آرتریت رماتوئید و رینیت آلرژیک در طب سنتی وجود دارد (۴، ۵، ۱۰ و ۱۱).

آویشن شیرازی، گیاهی با نام علمی *Zataria multiflora* از خانواده نعنائیان می باشد. مواد موثره اسانس آویشن شیرازی عمدتاً شامل تیمول و کارواکرول است. این گیاه در درمان تشنج، بیماری های تنفسی، اسپاسم عضلات صاف و نفخ مفید است. البته از کاربردهای اصلی آن می توان به اثر ضد اسپاسم آن در عضلات صاف و همچنین خاصیت ضد میکروبی آن اشاره نمود (۴، ۵، ۱۰ و ۱۳).

آویشن دنايي نیز با نام علمی *Thymus daenensis* از خانواده نعنائیان می باشد. از عمده ترین ترکیبات این گیاه می توان به تیمول اشاره کرد و سایر ترکیبات آن شامل پاراسیمن، بتاکاریوفیلن و متیل کارواکرول است. از این گیاه در طب سنتی به عنوان ضد نفخ، هضم

آویشن شیرازی، مقدار ۴۰ گرم برگ خشک شده گیاه به صورت پودر در آمد و در ۳۰۰ میلی لیتر حلال متشکل از ۵۰ درصد آب و ۵۰ درصد اتانول ۹۶ درجه خیسانده شد. برای تهیه عصاره آویشن دنیایی مقدار ۱۰ گرم از برگ خشک شده گیاه به صورت پودر در آمد و در ۵۰۰ میلی آب مقطر جوشانیده شد (۱). پس از ۲۴ ساعت با استفاده از پمپ خلا و صافی واتمن، محلول صاف شد. پس از عصاره گیری عمل جداسازی حلال از عصاره توسط دستگاه روتاری با کمک پمپ خلا انجام شد (۱ و ۲۱).

۲- بررسی حساسیت ضد میکروبی

باکتری *اشریشیا کلی* مورد استفاده از موارد کلی-سپتی سمی طیور ارجاعی به کلینیک دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد جداسازی شد. در ابتدا نمونه‌های مشکوک بر روی محیط مک کانکی کشت داده شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد انکوبه شد. سپس پرگنه‌های صورتی رنگ (لاکتوز مثبت) بر روی محیط EMB کشت داده شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد انکوبه شد. در مرحله بعد پرگنه‌های با جلای سبز فلزی بر روی محیط کشت BHI کشت داده و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد انکوبه شدند. باکتری که تست‌های تولید ایندول، واکنش متیل رد، واکنش VP و تست احیای سیترات را به صورت مثبت، مثبت، منفی و منفی نشان داد به عنوان باکتری *اشریشیا کلی* در نظر گرفته شد.

برای انجام این تحقیق از جدایه‌ای استفاده شده است که نسبت به تمام آنتی‌بیوتیک‌های انروفلوکساسین، سولفادیازین - تری متوپریم، فلورنیکل، جنتامایسین و فلومکوئین حساسیت دارد. این باکتری را در محیط

کننده غذا، ضد اسپاسم، ضد سرفه و خلط آور استفاده شده است. اثرات ضدقارچی، ضدانگلی و ضدباکتریایی این گیاه و اثرات درمانی آن برای درمان آسم، سرفه‌های خشک مکرر و برونشیت نیز به اثبات رسیده است (۴، ۵، ۱۱ و ۱۳).

با توجه به گزارشات متعدد و پراکنده در خصوص استفاده از گیاهان فوق الذکر در مهار رشد باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* (۶)، *سالمونلا تیفی موریوم* (۱۲)، *سودوموناس آئروژنوزا* (۹) و *لیستریا مونوسیژنوزا* (۲) بر آن شدیم تا برای اولین بار اثر این گونه گیاهان را بر روی رشد باکتری *اشریشیا کلی* با منشا طیور بررسی کنیم.

مواد و روش کار

برای بررسی و مقایسه خاصیت ضد میکروبی گیاهان دارویی سنتی با داروهای تجاری، از گل ختمی، ریشه گزنه، برگ آویشن شیرازی و ریشه آویشن دنیایی تهیه شده از مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد استفاده شد. مبنای استفاده از یک قسمت خاص گیاه مورد بررسی، خواص ضد میکروبی آن جزء بر اساس گزارشات موجود می‌باشد. روش عصاره گیری نیز بسته به اینکه از چه قسمتی از گیاه استفاده شده، انتخاب شد.

۱- روش عصاره گیری

برای تهیه عصاره گل ختمی، ۵۰ گرم گل ختمی خشک شده در ۱۰۰ میلی لیتر متانول خالص حل شد و مدت ۲۴ ساعت روی شیکر قرار گرفت. برای عصاره گیری از ریشه گزنه، ۵۰ گرم از پودر ریشه گزنه در ۱۰۰ میلی لیتر اتانول ۷۰ درجه حل شد و مدت ۲۴ ساعت روی شیکر قرار گرفت (۲۱). برای تهیه عصاره

مشخص شد. سطح معنی دار، کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

نتایج

نتایج نشان داد بیشترین قطر هاله عدم رشد در بین تیمارهای مختلف مربوط به استفاده از فلورفینیکل ۱۰٪ می‌باشد. در الویت بعدی، عصاره آویشن شیرازی و آویشن دناپی در غلظت‌های ۱۰۰ و ۵۰ درصد بیشترین قطر هاله عدم رشد را در محیط کشت /شیریشیا کلی ایجاد کردند (نمودار ۱) که قطر هاله عدم رشد این تیمارها با فلورفینیکل اختلاف معنی دار نشان داد ($P < 0/05$). قطر هاله عدم رشد مربوط به داروهای تجاری انروفلوکساسین ۱۰٪ و سولفادiazین-تری متوپریم (سولتریم ۴۸٪)، غلظت‌های ۲۵، ۱۲/۵ درصد آویشن شیرازی و دناپی، و غلظت‌های ۱۰۰ و ۵۰ درصد گزنه و ختمی در یک دامنه بوده و با یکدیگر اختلاف معنی داری نداشت، اما قطر هاله ایجاد شده توسط هر یک از تیمارها به طور معنی دار از عصاره آویشن شیرازی و دناپی در غلظت‌های ۱۰۰ و ۵۰ درصد و نیز فلورفینیکل کمتر بود ($P < 0/05$).

قطر مهاری در سایر غلظت‌ها شامل ۶/۲۵ درصدی آویشن شیرازی و دناپی، و نیز ۶/۲۵، ۱۲/۵ و ۲۵ درصدی گزنه و ختمی با همدیگر اختلاف معنی نداشت اما با سایر گروه‌های ذکر شده اختلاف معنی دار نشان داد ($P < 0/05$). تمامی غلظت‌های عصاره گیاهان و داروهای تجاری مورد بررسی با تیمار کنترل منفی از لحاظ قطر هاله عدم رشد در محیط کشت /شیریشیا کلی اختلاف معنی داری نشان داد ($P < 0/05$) (جدول شماره ۱).

پپتون واتر به مدت ۴۸ ساعت رشد داده و مقدار 10^7 باکتری معادل مک فارلند با رقت ۰/۵ بر روی محیط مولر- هینتون آگار کشت داده شد.

برای بررسی اثر ضدباکتریایی عصاره‌های گیاهان مورد نظر از سنجش حساسیت به روش انتشار دیسک استفاده گردید. نخست سویه‌های /شیریشیا کلی بر سطح محیط مولر- هینتون آگار کشت یکنواخت داده شد. آنگاه دیسک‌های بلانک استریل حاوی رقت‌های مختلف عصاره (۱۰۰، ۵۰، ۲۵، ۱۲/۵ و ۶/۲۵) بر سطح محیط کشت آگار قرار داده شد. سپس محیط‌های کشت به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتی گراد در انکوباتور قرار گرفتند. نتایج اثر ضدباکتریایی عصاره‌ها با اندازه گیری قطر هاله عدم رشد در اطراف دیسک‌ها ثبت شد. آزمایش برای هر جدایه باکتری ۳ بار تکرار شد و میانگین به همراه انحراف معیار قطر هاله‌های عدم رشد در ۳ بار تکرار به عنوان قطر نهایی ثبت گردید. همچنین از دیسک حاوی پروپیلن گلیکول به عنوان کنترل منفی و از دیسک‌های حاوی آنتی بیوتیک‌های انروفلوکساسین، سولفادiazین-تری متوپریم و فلورفینیکل به عنوان کنترل مثبت استفاده شد. دیسک‌های آنتی بیوگرام مربوط به آنتی بیوتیک‌های تجاری از شرکت پادتن طب تهیه گردیده است.

۳- آنالیز آماری داده‌ها

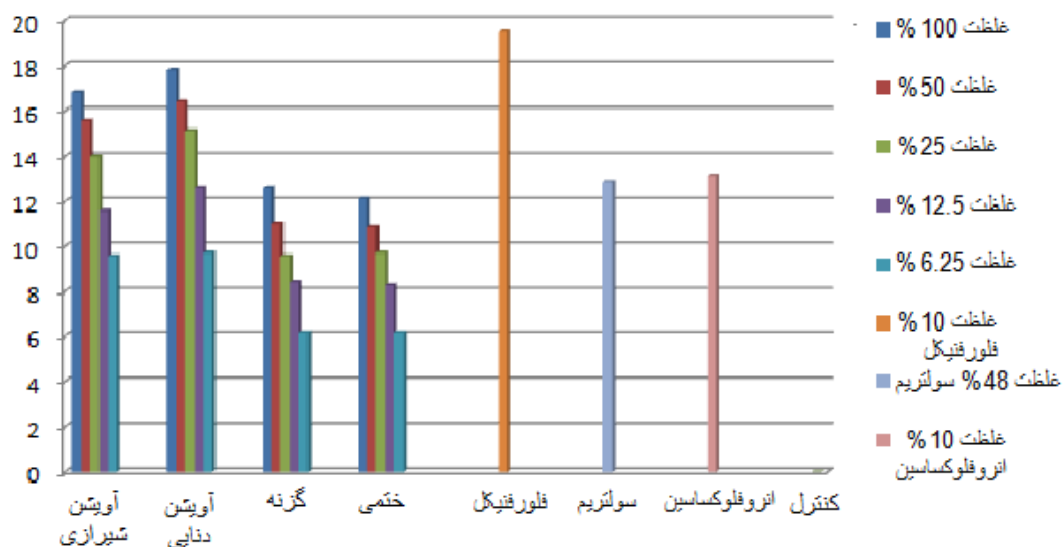
برای مقایسه میانگین قطر هاله عدم رشد در تیمارهای مختلف از برنامه نرم افزاری Sigma State 2.0 و روش واریانس یک‌طرفه داده‌ها (One way ANOVA) استفاده شد و در صورت وجود اختلاف میانگین، با آزمون توکی (Tukey) میزان اختلاف

مطالعه اثر ضد میکروبی عصاره آویشن شیرازی... ۵

جدول ۱- اندازه قطر هاله عدم رشد غلظت‌های مختلف عصاره‌های آویشن شیرازی، آویشن دناپی، گزنه و ختمی در محیط کشت *شریشیا کلی* در مقایسه با برخی آنتی بیوتیکی تجاری.

تیماژ	غلظت / دوز	اندازه قطر هاله عدم رشد (میلی متر) (میانگین ± انحراف معیار)
آویشن شیرازی	فلورفنیکل (۱۰ درصد)	۱۹/۵۷ ± ۲/۲۲ ^a
	سولفادیازین-تری متوپریم	۱۲/۸۵ ± ۰/۶۹ ^c
	۳۰ میکروگرم	۱۳/۱۴ ± ۱/۰۶ ^c
	۱۰۰ درصد	۱۶/۸۵ ± ۲/۲۶ ^b
	۵۰ درصد	۱۵/۵۷ ± ۱/۹۸ ^b
	۲۵ درصد	۱۴/۰۰ ± ۲/۱۶ ^c
	۱۲/۵۰ درصد	۱۱/۵۷ ± ۱/۵۱ ^c
	۶/۲۵ درصد	۹/۵۷ ± ۱/۵۱ ^d
	۱۰۰ درصد	۱۷/۸۵ ± ۱/۹۵ ^b
	۵۰ درصد	۱۶/۴۲ ± ۱/۷۱ ^b
آویشن دناپی	۲۵ درصد	۱۵/۱۴ ± ۱/۶۷ ^c
	۱۲/۵۰ درصد	۱۲/۵۷ ± ۱/۷۱ ^c
	۶/۲۵ درصد	۹/۷۱ ± ۲/۲۸ ^d
	۱۰۰ درصد	۱۲/۵۷ ± ۱/۶۱ ^c
	۵۰ درصد	۱۱/۰۰ ± ۱/۶۳ ^c
	۲۵ درصد	۹/۵۷ ± ۱/۱۳ ^d
	۱۲/۵۰ درصد	۸/۴۲ ± ۱/۲۷ ^d
	۶/۲۵ درصد	۶/۱۴ ± ۱/۴۶ ^d
	۱۰۰ درصد	۱۲/۱۴ ± ۱/۵۷ ^c
	۵۰ درصد	۱۰/۸۵ ± ۱/۶۷ ^c
ختمی	۲۵ درصد	۹/۷۱ ± ۱/۶۰ ^d
	۱۲/۵۰ درصد	۸/۲۸ ± ۱/۶۰ ^d
	۶/۲۵ درصد	۶/۱۴ ± ۱/۰۶ ^d
	کنترل	۰/۰۰ ^e

- حروف نامشابه در هر ستون نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار در بین دو گروه می باشد ($P < 0/05$).
- داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش شده است.



نمودار ۱- میانگین قطر هاله عدم رشد در گروه‌های مختلف مورد بررسی.

بحث

استفاده از آنتی بیوتیک‌های تجاری مشکلات مختلفی را برای حیوانات و استفاده کنندگان از فرآورده‌های حیوانی ایجاد می‌کند که شامل مسمومیت‌های احتمالی در اثر مصرف دارو، باقیماندن دارو در بافت‌ها و پیدایش سویه‌های مقاوم به عوامل ضدباکتریایی است (۱۸). گیاهان از هزاران سال پیش نقش بسیار مهمی در حفظ سلامتی و بهبود کیفیت زندگی انسان‌ها داشته‌اند. گیاهان دارویی دارای خواص مفیدی هستند که از جمله می‌توان به خاصیت ضدباکتریایی، ضدانگلی، ضدقارچی و آنتی‌اکسیدانی اشاره کرد (۵). امروزه فرآورده‌های گیاهی به دلیل دسترسی آسان، راحتی کاربرد و اثرات جانبی کمتر در مقایسه با فرآورده‌های شیمیایی برای درمان اکثر بیماری‌های انسان و حیوانات مورد استفاده قرار می‌گیرند (۴). با توجه به افزایش سطح تقاضای عمومی برای استفاده از مرغ ارگانیک و عاری از آنتی‌بیوتیک در چرخه غذایی انسان، استفاده از مواد ضد میکروبی با پایه گیاهی می‌تواند در کنترل بیماری‌های طیور نقش با ارزشی ایفا نماید. در همین راستا، در مطالعه اخیر به بررسی خواص ضدباکتریایی آویشن شیرازی، آویشن دناپی، گزنه و ختمی بر باکتری *اشریشیا کلی* با منشاء کلی باسیلوز طیور پرداخته شد. نتایج حاصله نشان داد که استفاده از عصاره گیاهان دارویی آویشن شیرازی، آویشن دناپی، گزنه و ختمی می‌تواند درجاتی از خاصیت ضدباکتریایی داشته باشد و در کنترل بیماری کلی باسیلوز نقش داشته باشد.

طبق اطلاعات موجود خاصیت ضدباکتریایی آویشن شیرازی در عفونت‌های مختلف به شکل آزمایشگاهی و بالینی در گونه‌های مختلف حیوانات و بعضاً انسان ارزیابی شده است. این مطالعات نشان داده

است آویشن شیرازی و دناپی بر روی انواع باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی شامل *استرپتوکوکوس آگالاکتیکه* (۶)، *استرپتوکوکوس پیوژنز* (۹)، *استافیلوکوکوس اورئوس* (۱۲ و ۶)، *سالمونلا تیپسی مورویوم* (۱۲)، *لیستریا مونوسیژنوز* (۱۹)، *سودوموناس ائروژنوزا* (۹ و ۱۹)، و *اشریشیا کلی* (۶، ۹ و ۱۹)، خاصیت ضد میکروبی نشان می‌دهد. در مطالعه اخیر خاصیت ضد میکروبی آویشن شیرازی و دناپی بر روی *اشریشیا کلی* جدا شده از موارد کلی باسیلوز طیور بررسی شد. نتایج نشان داد عصاره این گیاهان بر محیط کشت *اشریشیا کلی* مخصوصاً در غلظت‌های ۱۰۰ و ۵۰ درصد اثرات بازدارندگی قابل توجهی دارد. قبلاً بررسی خاصیت ضد میکروبی آویشن شیرازی و دناپی بر *اشریشیا کلی* جدا شده بر موارد ورم پستان گاو (۶) و انتروهوموراژیک (۸) نیز حاکی از تأثیر ضدباکتریایی این گیاهان بر رشد *اشریشیا کلی* می‌باشد بنابراین به نظر می‌رسد آویشن شیرازی و دناپی صرف نظر از منشاء باکتری می‌توانند به عنوان یک بازدارنده رشد *اشریشیا کلی* در گونه‌های مختلف موثر باشند. با توجه به اینکه مهمترین ماده موثره موجود در این گیاهان تیمول و کاراکرول می‌باشد (۴ و ۱۱)، بنظر می‌رسد خاصیت ضدباکتریایی این گیاهان به دلیل وجود این ترکیبات باشد.

با توجه به اینکه عصاره آویشن شیرازی و دناپی با داروهای تجاری سولفادیمیدین-تری متوپریم و انروفلوکساسین اثرات باز دارندگی مشابهی داشته‌اند و در بعضی از غلظت‌ها بهتر ظاهر شده‌اند، بنابراین می‌توانند جایگزین مناسبی برای آنتی بیوتیک‌ها در صنعت پرورش طیور باشند اما به نظر می‌رسد کاربرد بالینی آویشن شیرازی و آویشن دناپی مستلزم مطالعات و تحقیقات بیشتری در زمینه مکانیسم عمل این

استافیلوکوکوس اپیدرمیس و استرپتوکوکوس پایوژنز مورد بررسی قرار دادند و بیان کردند عصاره گزنه قادر به ایجاد هاله عدم رشد بر روی محیط کشت باکتری‌های مذکور می‌باشد (۲۳).

مطالعه اخیر نشان داده است عصاره گزنه در غلظت‌های ۲۵، ۱۲/۵ و ۶/۲۵ درصد تأثیر ضدباکتریایی مناسبی علیه *اشریشیا کلی* با منشاء کلی باسیلوز طیور ندارد، اما در غلظت ۱۰۰ و ۵۰ درصد با داروهای تجاری انروفلوکساسین و سولتریم برابری می‌کند. این درحالی است که مرور مطالعات قبلی نیز نشان می‌دهد اثر بازدارندگی گزنه بر رشد باکتری *اشریشیا کلی* با موفقیت اندکی همراه بوده است (۲۰، ۱۹، ۲۱، ۲۴ و ۲۴). به طوری که شهیدی و همکاران (۲۰۰۴) تأثیر عصاره گزنه را بر رشد ۳ سویه مختلف *اشریشیا کلی* آزمایش کرد و بیان کرد عصاره گزنه بر *اشریشیا کلی* موثر نیست (۲۰ و ۲۱). همچنین شاله و همکاران (۱۹۹۹) عصاره‌های اتانولی، متانولی و آبی اجزای برگ و ریشه گزنه را بر باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس*، *سودوموناس آئروژنوزا* و *اشریشیا کلی* مورد بررسی قرار دادند و نشان دادند عصاره‌های متنوع تهیه شده از ریشه و برگ گزنه بر رشد باکتری *اشریشیا کلی* تأثیری ندارد (۲۲). علاوه بر این، دالگر و همکاران (۲۰۰۴) اثر عصاره اتانولی گزنه را بر رشد باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس*، *کلبسیلا* و *اشریشیا کلی* بررسی کردند و نشان دادند عصاره گزنه تأثیر ضدباکتریایی بر *اشریشیا کلی* ندارد (۱۶). بهر حال، با توجه به نتایج بررسی اخیر و مروری بر سایر مطالعات به نظر می‌رسد گزنه و گل ختمی بر باکتری *اشریشیا کلی* صرف نظر از منشاء عفونت تأثیر قابل توجهی ندارد که برای تأیید این فرضیه نیاز به مطالعات جزئی تر با تجزیه عصاره داروها و بررسی اثر آن‌ها می‌باشد.

عصاره‌ها بویژه در زمینه باز دارندگی رشد عوامل میکروبی و بروز اشکال مقاوم باکتریایی است.

در مورد اثر ضدباکتریایی عصاره ختمی، در برخی گزارشات (۱۵، ۱۷ و ۲۴) از جمله Iauk و همکاران (۲۰۰۳) به خاصیت ضدباکتریایی آن مخصوصاً بر باکتری گرم مثبت *استافیلوکوکوس اورئوس* پرداخته شده است (۱۷). اما مطالعاتی نیز وجود دارد که نشان داده است ختمی کمترین تأثیر ضدباکتریایی را بر روی *اشریشیا کلی* به عنوان یک باکتری گرم منفی دارد (۲۴). اگرچه ممکن است این تأثیر متفاوت به دلیل نوع باکتری (گرم منفی یا گرم مثبت) باشد اما در مطالعه اخیر در غلظت‌های بالای ۲۵ درصد درجاتی از خاصیت ضدباکتریایی علیه *اشریشیا کلی* با منشاء عفونت کلی باسیلوزی طیور دیده شد لذا با توجه به موثر بودن و برابری خاصیت ضدباکتریایی عصاره ختمی در غلظت‌های ۱۰۰ و ۵۰ با داروهای تجاری انروفلوکساسین و سولتریم به نظر می‌رسد روش عصاره گیری و نوع عصاره مانع از اثر گذاری عصاره‌ها بر باکتری مذکور شده است. بهر حال به نظر می‌رسد فرایند عصاره گیری، شرایط کشت باکتریایی و آنتی بیوگرام در تفسیر نتایج تأثیر زیادی دارد که برای اثبات اثر نوع عصاره بر محیط کشت *اشریشیا کلی* نیاز به مطالعه وسیع تری می‌باشد.

در مطالعات مختلف اثر ضدباکتریایی گزنه بر باکتری *استافیلوکوکوس* به خوبی نشان داده شده است. کیایی و همکاران (۱۳۸۹) تأثیر عصاره اتانولی گزنه را بر باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* مورد بررسی قرار دادند و نشان دادند این گیاه دارای خاصیت ضدباکتریایی علیه باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* می‌باشد (۷). Janssen و همکاران (۱۹۸۵) عصاره گزنه را بر روی رشد باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس*،

۷. کیایی، ا.، مازندرانی، م.، قائمی، ع. (۱۳۸۹). تاثیر عصاره اتانولی ۷ گونه گیاه دارویی علیه باکتری‌های جدا شده از بیماران مبتلا به عفونت مجاری ادراری در شهرستان گرگان. فصلنامه گیاهان دارویی. دوره ۳۴، شماره ۹، صفحات ۸۳-۷۴.

۸. گودرزی، م.، ستاری، م.، نجار پیرانه، ش.، گودرزی، غ.، بیگدلی، م. (۱۳۸۵). بررسی تأثیر عصاره‌های آبی و الکلی گیاه آویشن شیرازی بر روی اشیریشیا کلی انتروهومورائیک. فصلنامه علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی لرستان. دوره ۸، شماره ۳، صفحات ۶۸-۶۳.

۹. محمد پور، ق.، مجد ستاری، ط.، مهراییان، ص.، حسین زاده، ا. (۱۳۸۹). بررسی خواص ضدباکتریایی و ضدقارچی اسانس گونه‌هایی از سه جنس آویشن (*Thyme*) و دو اکوتیپ کاکوتی و گونه مرزه بختیاری (*Satureja bachtiarica*). مجله علوم پایه دانشگاه آزاد اسلامی. دوره ۸، شماره ۱، صفحات ۱۱۷-۱۱۱.

۱۰. مدرسی چهاردهی، ا.، ابراهیم، د.، فریضا سلیمان، ش.، ابوالحسنی، ف. (۱۳۹۱). بررسی اثر عصاره‌های الکلی گیاه گزنه *Urtica dioica L.* بر تعدادی باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت. فصلنامه گیاهان دارویی. دوره ۱۱، شماره ۲، صفحات ۱۰۵-۹۸.

۱۱. معاونی، پ. (۱۳۸۸). گیاهان دارویی. جلد دوم. چاپ اول. انتشارات دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرقدس. صفحات ۱۲۳-۱۱۰.

۱۲. موسوی، م.، آخوندزاده بستی، ا.، میثاقی، ع.، جباری خامنه، ح. (۱۳۸۸). بررسی اثر آویشن شیرازی بر روی میزان رشد *سالمونلا تیفی* موربوم در سوپ جو تجاری. فصل نامه گیاهان دارویی. دوره ۲، صفحات ۱۱۲-۱۰۹.

۱۳. نقدی بادی، ح.، مکی زاده تفتی، م. (۱۳۸۲). مروری بر گیاه آویشن (*Tymus vulgaris L.*). فصلنامه گیاهان دارویی. دوره ۷، صفحات ۱۲-۱.

14. Barnes, H.A., Gross, W.B. (1997). *Diseases of Poultry*. 10th ed., Mosby-Wolf Publication Ltd., London. pp: 131-9.

به طور کلی، باتوجه به اثرات بازدارندگی قابل توجه عصاره آویشن شیرازی و دناپی بر رشد و تکثیر اشیریشیا کلی به نظر می‌رسد، تجزیه فیتوشیمیایی گیاهان مورد مطالعه و بررسی اثرات ضد اشیریشیا کلی و امنیت مصرف مواد موثره، می‌تواند در بکارگیری این گیاهان در کنترل بیماری کلی باسیلوز طیور نقش عمده ای ایفا کند.

منابع

- اولیا، پ.، صادری، ح.، نیازمند مطلوب، ف.، رضایی، م.ب. (۱۳۸۵). *Zataria multiflora bios* فصلنامه علمی پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران. دوره ۲۲، شماره ۱، صفحات ۲۶-۲۲.
- جلالی، م.، عابدی، د.، قاسمی دهکردی، ن.، چهارمحالی، ا. (۱۳۸۵). بررسی اثرات ضد میکروبی عصاره هیدرولیک الکلی تعدادی از گیاهان دارویی علیه باکتری لیستریا مونوسایتوزنز. مجله دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد. دوره ۸، شماره ۳، صفحات ۳۳-۲۵.
- داداش بیگی، م.، رضاخانی، و.، پشدار، م.، دارابی، ا. ح.، مسرور، ع. (۱۳۸۹). بررسی اثر ضدباکتریایی عصاره گیاه ریحان بر اشیریشیا کلی و سودوموناس آئروژینوزا. مجله دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی. دوره ۴، شماره ۴، صفحات ۸۰-۷۱.
- رجحان، م. ص. (۱۳۷۹). دارو و درمان گیاهی. چاپ اول. انتشارات علوی. صفحات ۴۷-۳۲.
- زرگری، ع. (۱۳۸۱). گیاهان دارویی. جلد دوم. انتشارات دانشگاه تهران. صفحات ۳۶-۲۵.
- زهراپی صالحی، م.ت.، وجگانی، م.، بیات، م.، ترشیزی، ح.، آخوندزاده بستی، ا. (۱۳۸۴). تعیین حداقل غلظت ممانعت کننده (MIC) اسانس گیاه آویشن شیرازی روی باکتری‌های استافیلوکوکوس آرنوس، استرپتوکوکوس آگالاکتیه و اشیریشیا کلی. مجله تحقیقات دامپزشکی. دوره ۶۰، شماره ۲، صفحات ۱۱۰-۱۰۷.

23. Tasdelen Fisgin, N., Tanriverdi Cayci, Y., Coban, A.Y., Ozatli, D., Tanyel, E., Durupinar, B., Tulek, N. (2009). Antimicrobial activity of plant extracts Ankaferd Blood Stopper. *Fitoterapia* **80**: 48-50.
24. Walter, C., Shinwari, Z.K., Afzal, I., Malik, R.N. (2011). Antibacterial activity in herbal products used in Pakistan. *Pakistan Journal of Botany* **43**: 155-62.
15. Babu, S., Satish, S., Mohana, D.C., Raghavendra, M.P., Raveesha, K.A. (2007). Anti-bacterial evaluation and phytochemical analysis of some iranian medicinal plants against plant pathogenic *Xanthomonas pathovars*. *Journal of Agricultural Technology* **3**: 307-16.
16. Dulger, B., Gonuz, A. (2004). Antibacterial activity of certain plants used in turkish traditional medicine. *Asian Journal of Plant Sciences* **3**: 104-7.
17. Iauk, L., Lo Bue, A.M., Milazzo, I., Rapisarda, A., Blandino, G. (2003). Antibacterial activity of medicinal plant extracts against periodontopathic bacteria. *Phytotherapy Research* **17**: 599-604.
18. Javed, M., Durrani, F.R., Hafeez, A., Khan, R., Ahmad, I. (2006). Extract of plant mixture on carcass quality of broiler chicks. *Journal of Agriculture and Biological Sciences* **1**: 115-21.
19. Karman, S., Digrak, M., Ravid, U., Ilcim, A. (2001). Antibacterial and antifungal activity of essential oils of *Thymus revolutus* clelak from turkey. *Journal of Ethnopharmacology* **76**: 183-6.
20. Shahidi Bonjar, Gh. (2004). Evaluation of antibacterial properties of iranian medicinal-plants against *Micrococcus luteus*, *Serratia marcescens*, *Klebsiella pneumoniae* and *Bordetella bronchoseptica*. *Asian Journal of Plant Sciences* **3**: 82-6.
21. Shahidi Bonjar, G.H., Aghighi, S., Karimi Nik, A. (2004). Antibacterial and antifungal survey in plants used in indigenous herbal-medicine of southeast regions of Iran. *Journal of Biological Sciences* **4**: 405-12.
22. Shale, T.L., Staden, J.V. (1999). Screening of medicinal plants used in Lestho for antibacterial and anti-inflammatory activity. *Journal of Ethnopharmacology* **67**: 79-86.

Antimicrobial effect of *Zataria multiflora*, *Thymus daenensis*, *Althea officinalis*, and *Urtica dioica* on growth of *Escherichia coli* isolated from poultry colibacillosis

Gholami-Ahangaran, M.^{1*}, Ghasemi Pirbalouti, A.², Farasat, M.³, Fasihi, Kh.³

1- Clinical Sciences Department, Veterinary Medicine Faculty, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran

2- Medical Plant Research Center, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran

3- Graduated of Veterinary Medicine Faculty, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran

Received Date: 15 April 2014

Accepted Date: 18 May 2014

Abstract: In order to study the antibacterial effect of *Zataria multiflora*, *Thymus daenensis*, *Althea officinalis*, and *Urtica dioica*, chicken *Escherichia coli* (*E. coli*) isolates sensitive to enrofloxacin (ENR), Sulfadimidin-trimetoprim (Sul-trim), Florfenicol (FLO), Flemequine and Gentamycin were used. After the preparation of extracts from herbal plants, the antibacterial sensitivity of herbal plants with different concentrations (100, 50, 25, 12.5 and 6.25%) was assayed by disc diffusion test. Also, propylene glycol as negative control and commercial antibacterial drugs comprising ENR, Sul-trim and FLO as positive control were used and compared with herbal plant extracts for antibacterial sensitivity. The results showed maximum growth inhibitory diameter for *E. coli* induced following usage of florfenicol, 100% and 50% concentration of *Zataria multiflora* and, *Thymus daenensis* extracts, respectively. The 50% and 100 % concentrations of *Althea officinalis*, and *Urtica dioica* extracts could induce growth inhibitory diameter the same as ENR and Sul-trim. The overall, results showed *Zataria multiflora*, *Thymus daenensis*, *Althea officinalis*, and *Urtica dioica* have degrees of antibacterial effect and these herbal plants can be used as an antibacterial supplement in the treatment of avian colibacillosis. Therefore, the phytochemical analysis for complementary study is necessary.

Keywords: *Zataria multiflora*, *Thymus daenensis*, *Althea officinalis*, *Urtica dioica*, *Escherichia coli*, Poultry.

*Corresponding author: Gholami-Ahangaran, M.

Address: Assistance Professor, Department of Clinical Sciences, Veterinary Medicine Faculty, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran. Tel: 03813361060

Email: mgholamia@yahoo.com