JVM Journal of Veterinary Microbiology

نشریه میکربیولوژی دامپزشکی/ دوره هشتم، شماره اول، ۱۳۹۱، پیاپی ۲۴: ۲۱-۱۳

مطالعه اثر ضد باکتریایی عصاره اتانولی سیاه دانه علیه تعدادی از باکتری‌های بیماری‌زای مهم دامپزشکی

داریوش غریبی[1*]، مسعود قربانپور نجف‌آبادی[1]، علی محبت[2]

۱- گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

۲- دستیار بخش میکروبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

تاریخ دریافت: ٤ آبان ۱۳۹۱ تاریخ پذیرش: ۱۳ آذر ۱۳۹۱

چکیده

امروزه مصرف نامنظم و بی‌رویه آنتی بیوتیک‌های سنتتیک و تجاری زمینه‌ساز بروز مقاومت دارویی در باکتری‌ها و برجا گذاشتن عوارض جانبی و باقی مانده‌های دارویی در فرآورده‌های دامی شده است که این امر لزوم استفاده از ترکیباتی طبیعی نظیر گیاهان دارویی برای اهداف درمانی را رهنمون می‌سازد. در این مطالعه ویژگی‌های ضدباکتریایی سیاه دانه علیه ۱۰ باکتری مهم بیماری‌زا از دیدگاه دامپزشکی مورد بررسی قرار گرفت. جدایه‌های بالینی باکتری‌های مختلف از حیوانات توسط واکنش‌های بیوشیمیایی و ویژگی‌های کشت و ریخت‌شناسی شناسایی شدند. حداقل غلظت ممانعت‌کننده از رشد باکتری (MIC) و حداقل غلظت کشنده باکتریایی (MBC) عصاره اتانولی سیاه دانه با روش Macro broth dilution و برای هر یک از سویه‌های پاتوژن باکتریایی تعیین گردید. میانگین حداقل غلظت ممانعت‌کننده از رشد و حداقل غلظت کشنده باکتری (میلی گرم به ازای هر میلی لیتر) بترتیب در یرسینیا انتروکولیتیکا (۱۰۰و۲۰۰)، لیستریا مونوسیتوژنز (۱۲/۵و۲۵)، کورینه باکتریوم سودوتوبرکلوزیس (۱۲/۵و۱۲/۵)، کورینه باکتریوم رناله (۳/۱۲۵و۶/۲۵)، بروسلاآبورتوس (۲۵و۵۰)، پاستورلامولتوسیدا (۶/۲۵و۶/۲۵)، منهیمیا هممولیتیکا (۳/۱۲۵و۳/۱۲۵)، تروپرلا (آرکانوباکتریوم) پیوژنز (۳/۱۲۵و۶/۲۵)، اشریشیاکلی (۱۰۰و۲۰۰)، استافیلوکوکوس آرئوس (۵۰و۵۰) تعیین گردید. بیشترین فعالیت ضدباکتریایی در مورد منهیمیا هممولیتیکا با حداقل غلظت ممانعت‌کننده از رشد ۳/۱۲۵ میلی گرم در هر میلی لیتر و کمترین فعالیت ضدباکتریایی در مورد اشریشیا کلی و یرسینیا انتروکولیتیکا با حداقل غلظت ممانعت‌کننده از رشد ۱۰۰ میلی گرم در هر میلی لیتر مشاهده شد. نتایج این مطالعه نشان داد که عصاره اتانولی سیاه دانه بر رشد تمام باکتری‌های پاتوژن مورد آزمایش اثر ممانعتی داشت و می‌توان از این عصاره یا ترکیبات خالص شده از آن درکنترل عوامل عفونی استفاده نمود.

کلمات کلیدی: *سیاه دانه ،عصاره اتانولی، باکتری‌های بیماری‌زا، دامپزشکی*

*نویسنده مسئول: داریوش غریبی

آدرس: گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران. تلفن: ۰۹۱۳۲۸۳۱۸۴۱

پست الکترونیک: *d.gharibi@scu.ac.ir*

مقدمه

معمولا اولین اقدام درمانی در مواجهه با بیماری‌های عفونی باکتریایی استفاده از آنتی بیوتیک‌های مختلف سنتزی یا نیمه سنتزی می‌باشد. استفاده بی‌رویه، طولانی و مکرر آنتی بیوتیک‌ها موجب پیدایش سویه‌های مقاوم به آنتی بیوتیک در باکتری‌های بیماری‌زا، برجا گذاشتن عوارض جانبی نظیر ازدیاد حساسیت، سرکوب ایمنی، آلرژی و باقی‌مانده‌های دارویی در فرآورده‌های دامی شده است که به‌نوبه خود به خطر افتادن سلامتی مصرف کننده را در پی خواهد شد (۹). خواص ضد میکروبی گیاهان دارویی و داروهای سنتی از زمان‌های قدیم مورد توجه بشر بوده و گذشتگان بدون اطلاع از ماده موثره و مکانیسم اثر گیاهان دارویی؛ تنها به طور تجربی از این مواد برای درمان بیماری‌ها استفاده می-کردند.برخلاف آنتی بیوتیک‌ها و اثرات جانبی که آن‌ها در انسان و حیوانات به جای می‌گذارند. یکی از مزایای استفاده از گیاهان دارویی اثرات چندگانه (Multiple effect) آن‌ها از جمله خواص ضدسرطان، ضددیابت، اثرات کاهش وزن و یا چربی خون و اثرات ضدمیکروبی آن‌هامی‌باشد (۱و۲). یکی از این گیاهان دارویی سیاه دانه (*Nigella sativa*) از خانواده آلاله است. گیاه سیاه دانه یک گیاه یک ساله است که بیشتر در نواحی جنوب و جنوب غربی آسیا، اروپای جنوبی و شمال افریقا می‌روید. نام‌های دیگر این گیاه در جنوب آسیا، Black cumin و Sinouj است و نام عربی آن حب‌السودا است. در تاثیر درمانی آن حضرت رسول (ص) بسیار تاکید نموده‌اند و آن را داروی هر درد بجز مرگ دانسته‌اند.در طب سنتی موارد متعددی از کاربرد این گیاه دارویی در درمان بیماری‌های مختلف از سردرد، میگرن، اختلالات قاعدگی، چاقی، فلجی، اختلالات گوارشی، بیماری‌های تنفسی وکلیوی، فشار خون، درمان آکنه و اگزما، مسمومیت، افسردگی، سرطان، التهاب‌ها و دیابت وجود دارد (۱۸،۱۴،۱۱،۱۹و ۲۰). در مطالعاتی چند اثرات ضدباکتریایی سیاه دانه بر برخی باکتری‌های بیماری‌زای انسانی گزارش شده است(۱۵،۱۰،۶و۲۲). مطالعات فیتوشیمیایی سیاه دانه نشان داده است که دانه‌های این گیاه حاوی مواد مختلفی مانند نیگلّیسین، نیگلّیدین، N اکسید نیگلّیمین و روغن‌های ضروری و فرار است (۴، ۵و۲۰). ایران به علت تنوع آب و هوایی و وسعت زیاد دارای طیف وسیعی از گیاهان دارویی است که پایه و اساس طب سنتی کشور می‌باشد. تنوع اقلیمی و خاک متفاوت مناطق مختلف می‌تواند تا حدودی در ترکیب این گیاهان دارویی تاثیرگذار باشد (۲و۳). علی‌رغم مطالعات زیادی که در زمینه اثرات ضدباکتریایی سیاه دانه انجام شده است، مطالعات کمی بر روی اثرات ضدباکتریایی این ماده بر روی پاتوژن‌های دامپزشکی، تعیین MIC و MBC این ماده بر روی این باکتری‌ها و همچنین کاربرد این ماده در این رشته انجام شده است. بر این اساس این تحقیق اثرات ضد میکروبی عصاره الکلی سیاه دانه (*Nigella sativa*) به عنوان یک گیاه دارویی علیه تعدادی از باکتری‌ها و جدایه‌های کلینیکی بیماری‌زا و مهم از بعد دامپزشکی (که از جنبه بیماری‌های مشترک و بهداشت غذایی نیز مهم می‌باشند) را مورد بررسی قرار داد. این باکتری‌ها شامل *یرسینیا انتروکولیتیکا، لیستریا مونوسیتوژنز، کورینه باکتریوم سودوتوبرکلوزیس، کورینه باکتریوم رناله، بروسلا آبورتوس، پاستورلا مولتوسیدا، منهیمیا هم‌ولیتیکا*، تروپرلا (*آرکانوباکتریوم) پیوژنز، اشریشیا کلی و استافیلوکوکوس آرئوس* بود.

مواد وروش کار

۱- تهیه عصاره سیاه دانه

در این مطالعه جهت تهیه عصاره اتانولی، از روش خیساندن استفاده گردید. دانه‌های سیاه دانه از یکی از عطاری‌های شهر اهواز خریداری شد. دانه‌های سیاه دانه در آسیاب معمولی پودر گردید و سپس در الکل اتانول مطلق به مدت پنج روز در دمای اتاق خیسانده شد. مقدار الکل به اندازه‌ای بود که تمام دانه‌ها را بپوشاند. سپس با استفاده از کاغذ صافی واتمن محلول حاصل فیلتر شد و اتانول آن در دستگاه تقطیر دوّار تبخیر گردید و در نهایت در دی متیل سولفوکساید (DMSO) حل گردید و عصاره جمع‌آوری شده در یخچال نگهداری گردید.

۲- تعیین وزن خشک عصاره

جهت استاندارد نمودن روش و تکرارپذیری آن وزن خشک عصاره تعیین گردید. بدین صورت که سه لوله خالی توسط ترازوی دیجیتال حساس وزن شدند، سپس یک میلی لیتر عصاره به هر لوله اضافه گردیده وبه مدت ۲۴ ساعت در ۵۰ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردید. بعد از خشک شدن کامل عصاره و توزین مجدد، درصد ماده خشک عصاره محاسبه گردید.

۳- روش تهیه سوسپانسیون باکتری

در این تحقیق ده گونه مختلف باکتریایی مورد استفاده قرار گرفت این باکتری‌ها شامل: *یرسینیا انتروکولیتیکا، لیستریا مونوسیتوژنز، کورینه باکتریوم سودوتوبرکلوزیس، کورینه باکتریوم رناله، بروسلا آبورتوس، پاستورلا مولتوسیدا، منهیمیا همولیتیکا، تروپرلا (آرکانوباکتریوم) پیوژنز، اشریشیا کلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* بودند که تعدادی از باکتری‌های مورد نظر از نمونه‌های بالینی مراجعه کرده به بیمارستان دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز، با استفاده از روش‌های استاندارد کشت، ویژگی‌های ریخت‌شناسی و آزمون‌های بیوشیمیایی، جنس وگونه آن‌ها اثبات گردید و تعدادی از آن‌ها نیز از کلکسیون میکروبی موجود در بخش میکروب‌شناسی که قبلا تعیین هویت گردیده بودند استفاده گردید. جهت آماده‌سازی سوسپانسیون باکتریایی، ۲۴ ساعت قبل از تهیه رقت مورد نیاز از باکتری‌های مختلف، باکتری‌های مورد نظر در محیط آبگوشت BHI در دمای $37^{\circ}C$ و شرایط هوازی به مدت ۱۸ ساعت و در شرایط رشد لگاریتمی کشت داده شدند. پس از این مدت کشت‌های فوق با دور ۲۵۰۰ در دقیقه و به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ و رسوب حاصل دو مرتبه در سرم فیزیولوژی استریل شستشو داده شد. در مرحله آخر رسوب شستشو داده شده مرحله قبل، در سرم فیزیولوژی استریل حل گردید و تراکم آن جهت افزودن به لوله‌های حاوی رقت‌های مختلف از عصاره اتانولی سیاه دانه، معادل نیم استاندارد مک فارلند($1/5\times10^{8}$ CFU/ml) تنظیم شد (۱۶و۱۷).

٤- روش تعیین فعالیت ضدباکتریایی عصاره

در این بررسی جهت تعیین فعالیت ضدباکتریایی عصاره الکلی سیاه دانه علیه باکتری‌های مذکور از روش ماکروبراث دایلوشن برای تعیین MIC (حداقل غلظت ممانعت کننده از رشد) وMBC (حداقل غلظت کشنده باکتری) استفاده واز دیمتیل سولفوکساید (DMSO) به عنوان کنترل حلال استفاده شد، لازم به ذکر است که هر آزمایش در سه تکرار انجام گرفت. بطور خلاصه، رقت‌های متوالی بر مبنای دو از عصاره حل شده در DMSO (۱۰٪w/v) در دوازده لوله

آزمایش استریل (از ۱:۲ تا ۱:۸۱۹۲) حاوی محیط آبگوشت مولرهینتون (مرک آلمان) تهیه شد. بطور مشابه رقت‌هایی نیز از DMSO در محیط کشت آبگوشت مولر هینتون به عنوان شاهد حلال تهیه شد.پس از این به هر لوله، یک میلی لیتر از سوسپانسیون باکتریایی معادل نیم استاندارد مک فارلند (CFU/ml $۱-۲\times۱۰^{۸}$ ریخته و لوله‌ها شماره‌گذاری شد. در هر ردیف یک لوله برای کنترل محیط کشت و یک لوله نیز برای کنترل رشد باکتری اختصاص داده شد. پس از مخلوط نمودن کامل، لوله‌ها در دمای ۳۷°C به مدت ۲۴ ساعت و شرایط هوازی گرمخانه گذاری شدند. لازم به ذکر است که تروپرلا *(آرکانوباکتریوم) پیوژنز* و *بروسلا آبورتوس* در شرایط CO2 دار (Candle jar) انکوبه شد. وجود کدورت (در مقایسه با ردیف کنترل) حاکی از رشد باکتری و شفافیت، نشان‌دهنده عدم رشد باکتری می‌باشد. آخرین لوله‌ای که کدورتی را نشان نمی‌داد، به عنوان MIC گزارش گردید. برای تعیین MBC ازهمه لوله‌های فاقد کدورت در محیط آگار حاوی خون کشت داده شد. محیط‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه انکوبه گردیدند. کمترین غلظتی از عصاره که باعث کشته شدن حداقل ۹۹٪ باکتری‌ها گردیده بود، به‌عنوان MBC گزارش گردید (۱۶و۱۷).

۵- تعیین MIC و MBC براساس وزن خشک عصاره

با توجه به وزن خشک عصاره در هر میلی لیتر، رقت‌هایی که به عنوان MIC و MBC عصاره تعیین گردید به مقادیر وزنی عصاره تبدیل شد.

٦- تجزیه و تحلیل‌های آماری:

جهت محاسبه میانگین داده‌ها از برنامه نرم افزاری اکسل (میکروسافت آفیس نسخه ۲۰۰۷) استفاده شد.

نتایج

میانگین فعالیت کشنده باکتری (MBC) و ممانعت کننده از رشد (MIC) سه تکرار عصاره اتانولی سیاه دانه در شرایط آزمایشگاهی بر روی ده باکتری پاتوژن در جدول ۱ آمده است. همانطور که در جدول مشخص شده است میانگین حداقل غلظت ممانعت کننده از رشد در *یرسینیا انتروکولیتیکا* ۱۰۰، *لیستریا مونوسیتوژنز* ۱۲/۵، *کورینه باکتریوم سودوتوبرکلوزیس* ۱۲/۵، *کورینه باکتریوم رناله* ۳/۱۲۵، *بروسلا آبورتوس* ۲۵، *پاستورلا مولتوسیدا* ۶/۲۵، *منهیمیا هممولیتیکا* ۳/۱۲۵، تروپرلا *(آرکانوباکتریوم) پیوژنز* ۳/۱۲۵، *اشریشیا کلی* ۱۰۰ و *استافیلوکوکوس اورئوس* ۵۰ میلی گرم به ازای هر میلی لیتر عصاره اتانولی عصاره سیاه دانه می‌باشد (جدول ۱).

همچنین میانگین حداقل غلظت کشنده باکتری در *یرسینیا انتروکولیتیکا* ۲۰۰، *لیستریا مونوسیتوژنز* ۲۵، *کورینه باکتریوم سودوتوبرکلوزیس* ۱۲/۵، *کورینه باکتریوم رناله* ۶/۲۵، *بروسلاآبورتوس* ۵۰، *پاستورلا مولتوسیدا* ۶/۲۵، *منهیمیا هممولیتیکا* ۳/۱۲۵، تروپرلا *(آرکانوباکتریوم) پیوژنز* ۶/۲۵، *اشریشیا کلی* ۲۰۰ و *استافیلوکوکوس اورئوس*۵۰ میلی گرم به ازای هر میلی لیتر عصاره اتانولی عصاره سیاه دانه مشاهده گردید (جدول ۱).

عصاره اتانولی سیاه دانه بر رشد تمام باکتری‌های پاتوژن مورد آزمایش اثر ممانعتی نشان داد. بیشترین فعالیت ضدباکتریایی در مورد *منهیمیا هممولیتیکا* با MIC=۳/۱۲۵ mg/ml و کمترین فعالیت ضدباکتریایی

بر *اشریشیا کلی* و *یرسینیا انتروکولیتیکا* با mg/ml MIC=۱۰۰ ثبت گردید.

در مورد برخی باکتری‌ها حداقل غلظت ممانعت کننده از رشد (MIC) و حداقل غلظت کشنده باکتری (MBC) یکسان بود که این موضوع در مورد *کورینه باکتریوم سودوتوبرکلوزیس* ۱۲/۵ میلی گرم در هر میلی لیتر، *پاستورلا مولتوسیدا* ۶/۲۵ میلی گرم در هر میلی لیتر ، *منهیمیا همولیتیکا* ۳/۱۲۵ میلی گرم در هر میلی لیتر و *استافیلوکوکوس اورئوس* ۵۰ میلی گرم در هر میلی لیتر مشاهده گردید (جدول۱). DMSO که بعنوان رقیق‌کننده عصاره در تمامی مراحل آزمایش بکار برده شده بود، در هر کدام از رقت‌های مذکور در آزمایش اثر باکتری‌کشی و ممانعت‌کننده از رشد نداشت.

جدول۱ :حداقل غلظت ممانعت کننده رشد و حداقل غلظت کشنده باکتری عصاره اتانولی سیاه دانه بر روی ده باکتری مورد آزمایش

باکتری	حداقل غلظت ممانعت کننده از رشد عصاره اتانولی سیاه دانه (میلی گرم در هر میلی لیتر)	حداقل غلظت کشنده عصاره اتانولی سیاه دانه (میلی گرم در هر میلی لیتر)
یرسینیا انتروکولیتیکا	۱۰۰	۲۰۰
لیستریا مونوسیتوژنز	۱۲/۵	۲۵
کورینه باکتریوم سودوتوبرکلوزیس	۱۲/۵	۱۲/۵
کورینه باکتریوم رناله	۳/۱۲۵	۶/۲۵
بروسلا ابورتوس	۲۵	۵۰
پاستورلا مولتوسیدا	۶/۲۵	۶/۲۵
منهیمیا همولیتیکا	۳/۱۲۵	۳/۱۲۵
اشرشیا کلی	۱۰۰	۲۰۰
تروپرلا (آرکانوباکتریوم) پیوژنز	۳/۱۲۵	۶/۲۵
استافیلوکوکوس اورئوس	۵۰	۵۰

بحث

فعالیت ضدمیکروبی انواع عصاره‌های سیاه دانه علیه دامنه وسیعی از باکتری‌ها، ویروس‌ها، قارچ‌ها و انگل‌ها مورد مطالعه قرار گرفته است (۲۲،۱۵،۱۳،۱۰،۸،۶،۵،۴) در این مطالعه عصاره اتانولی سیاه دانه بر ده باکتری مهم پاتوژن موثر بود .بیشترین فعالیت ضدباکتریایی بر روی *منهیمیا همولیتیکا* با mg/ml MIC=۳/۱۲۵ و کمترین فعالیت ضدباکتریایی بر روی *اشریشیا کلی* و *یرسینیا انتروکولیتیکا* باmg/ml MIC=۱۰۰ مشاهده گردید. به استثنای دو باکتری گرم منفی *منهیمیا همولیتیکا* و *پاستورلا مولتوسیدا* (که در شرایط آزمایشگاهی نیز مقاومت ناچیزی داشته و باید مرتبا در فرصت زمانی کوتاه تجدید کشت شوند) در مقایسه تاثیر عصاره اتانولی سیاه دانه بر روی باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی ، باکتری‌های گرم منفی تقریبا نسبت به باکتری‌های گرم مثبت مقاوم تر بودند. این یافته موافق با یافته‌های Agarwal و همکاران (۱۹۷۹) و Kahsai و همکاران (۲۰۰۲) است که گزارش کردند باکتری‌های گرم منفی نسبت به باکتری‌های گرم مثبت حساسیت کمتری به عصاره اتانولی سیاه دانه دارند (۶و۱۲). پائین بودن حساسیت باکتری‌های گرم منفی می‌تواند به دلیل وجود پرده بیرونی در آن‌ها باشد که

نفوذ ترکیبات آب گریز عصاره را بداخل باکتری گرم منفی را مختل می‌کند. همچنین این امر می‌تواند به دلیل وجود پمپ‌های مقاومت دارویی چندگانه (MDRs) که سموم آمفی پاتیک را از پرده بیرونی دفع می‌کند باشد و این مساله به خصوص در مورد جنس *یرسینیا* و *سودوموناس* صادق است (۲۱).

در حال حاضر خیلی از ترکیبات سیاه دانه مشخص شده‌اند. Ali و همکاران (۲۰۰۳) روغن‌های ضروری سیاه دانه را با استفاده از GC-MS آنالیز کردند. جزء اصلی روغن‌های ضروری، تیموکینون معرفی شده است. تیموکینون به سهولت دایمریزه شده و دایتیموکینون را تشکیل می‌دهد. مدتی بعد تیموهیدروکینون از روغن فرّار سیاه دانه جدا شده و اثر قوی آن بر علیه میکروارگانیسم‌های گرم مثبت مشخص گردید (۷). گزارشاتی در مورد اثر عصاره و یا روغن سیاهدانه بر روی باکتری‌های مختلف چاپ شده است. اثر میکروبی عصاره دی اتیل اتری سیاه دانه توسط Hanafy و همکاران (۱۹۹۱) بررسی و گزارش گردید که اثری مهاری وابسته به غلظت روی باکتری‌های گرم مثبت نظیر *باسیلوس سرئوس* و *استافیلوکوکوس اورئوس* و همچنین باکتری‌های گرم منفی دارد. دراین بررسی همچنین اثر سینرژیستی با استرپتومایسین و جنتامایسین و اثر افزاینده با اسپکتینومایسین، اریترومایسین، توبرامایسین، داکسی سایکلین، کلرامفنیکل، نالیدیکسیک اسید، آمپی سیلین، لینکومایسین و کوتریموکسازول برای آن، نشان داده شده است (۱۰). Randhawa و همکاران (۲۰۰۲) نشان دادند یک اثر مهاری وابسته به غلظت برعلیه مخمرهای بیماری‌زا برای عصاره سیاه دانه وجود دارد، همچنین عصاره خام سیاه دانه علیه میکروارگانیسم‌های مقاوم به آنتی بیوتیک‌ها، چه گرم منفی و چه گرم مثبت، موثر می‌باشد (۱۸). مشخص گردیده است که هم عصاره خام آلکالوئیدی و هم عصاره آبی سیاه دانه برعلیه میکروارگانیسم‌های متفاوت که از بیماران انسانی مبتلا به آرتریت سپتیک جدا شده‌اند و به آنتی‌بیوتیک‌ها مقاومت نشان می‌دادند، مؤثر بوده است و در این مورد باکتری‌های گرم منفی جدا شده بیشتر از گرم مثبت‌ها تحت تأثیر قرار گرفته‌اند (۷). عصاره روغنی سیاه دانه تاثیر مناسبی را نسبت به سویه‌های *استافیلوکوک* طلایی اعمال می‌نماید و این خاصیت در رقت‌های ۱/۱۶ و ۱/۱۰ با اثر آنتی بیوتیک‌های اختصاصی سفوروکسیم، سفاکلور، سفاماندول و سفتازیدیم برابری می‌کند و احتمالا تاثیر روغن سیاه دانه بر روی دیواره سلولی باکتری باشد (۲۲). به طور خلاصه می‌توان نتیجه گرفت انواع اشکال دارویی عصاره سیاه دانه اثر ضد میکروبی مناسبی بر گونه‌های مختلف باکتری‌ها دارد و با توجه به اینکه هر ساله هزینه هنگفتی صرف واردات آنتی بیوتیک‌ها به صورت مواد اولیه یا آماده می‌شود و با در نظر گرفتن مساله مهم مقاومت‌های آنتی بیوتیکی، لذا هم از جنبه علمی و هم اقتصادی کاربرد این عصاره در درمان بیماری‌ها به اشکال مختلف دارویی یا همراه جیره غذایی قابل توصیه می‌گردد که این امر نیز نیازمند تحقیقات بیشتر در این زمینه می‌باشد. همچنین ضروری به نظر می‌رسد که ترکیبات فعال عصاره سیاه دانه جداسازی و تخلیص گردد و پس از انجام تحقیقات آزمایشگاهی لازم جهت اهداف درمانی در حیطه پزشکی و دامپزشکی به کار گرفته شوند.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله از مساعدت‌های حوزه معاونت پژوهشی دانشگاه شهید چمران اهواز که هزینه تحقیق اخیر را فراهم نمودند تقدیر و تشکر می‌نمایند.

منابع

۱. امید بیگی، ر. (۱۳۸۸). *تولید و فرآوری داروهای گیاهی*. جلد اول، چاپ پنجم، انتشارات به نشر، تهران، صفحات ۷۷-۶۸.

۲. صمصام شریعت، س.ه. (۱۳۷۱). *عصاره گیری و استخراج مواد موثره گیاهان دارویی و روش‌های شناسایی و ارزشیابی آن‌ها*. چاپ اول، انتشارات مانی، اصفهان، صفحه ۲۹۳.

۳. زرگری، ع. (۱۳۹۰). *داروهای گیاهی*. جلد پنجم، چاپ اول، انتشارات دانشگاه تهران، تهران.

4. Abdulelah, H.A.A., Zainal-Abidin, B.A.H. (2007). *In vivo* anti-Malaria tests of *Nigella sativa* (Black Seed) different extracts. *American journal of Pharmacology and Toxicology* **2**: 460.

5. Abdulkader, M.D.T. (2009). *In vitro* anti *Trichomonas* effect of *Nigella sativa* aqueous extract and wheat germ Agglutinatinin. *JKAU Medical Science* **16**: 1734.

6. Agarwal, R., Kharya, M.D., Shrivastava, R. (1979). Antimicrobial and anthelmintic activities of the essential oil of *Nigella sativa* Linn. *Indian Journal of Experimental Biology*. **17:** 1264-5**.**

7. Ali, B.H., Blunden, G. (2003). Pharmacological and toxicological properties of *Nigella sativa*. *Phytotherapy Research*. **17**: 299-305.

8. Castro, S.B.R., Leal, C.A.G., Freire, F.R., Carvalho, D.A., Oliveira, D.F., Figueiredo, H.C.P. (2008). Antibacterial activity of plant extracts from Brazil against fish pathogenic bacteria. *Brazilian Journal of Microbiology* **39**: 756-60.

9. Franklin, T.J., Snow, G.A. (1981). *Biochemistry of antimicrobial action*. 3rd edition, Chapman and Hall, London: 58-60

10. Hanafy, M.S.M., Hatem, M.E. (1991). Studies on the antimicrobial activity of *Nigella sativa* seed (Black Cumin). *Journal of Ethnopharmacology* **34**: 275-8.

11. Hassan, M., El-Dakhakny, M. (1992). Effect of some *Nigella sativa* constituents on chemical carcinogenesis in hamster cheek pouch. *Journal of the Egyptian Society of Pharmacology and Experimental Therapeutics* **11**: 675-7.

12. Kahsai, A.W. (2002). Isolation and characterization of active ingredients from *Nigella sativa* for antibacterial screening. Master's Thesis, Department of Chemistry, East Tennessee State University.

13. Khan, M.A., Ashfaq, M.K. (2003). The in vivo antifungal activity of the aqueous extract from *Nigellasative* seeds. *Phytotherapy Research* **17**: 83-6.

14. Mahfuz, M., Abdel-Mguid R., El-Dakhakhny, M. (1960). Effectiveness of *Nigella* in Asthma. *Alexandria Journal of Medicine* **6**: 543-7.

15. Mohan Nair, M.K., Vasudevan, P., Venkitanarayanan, K. (2005). Antibacterial effect of black seed oil on *Listeria monocytogenes*. *Food Control* **16**: 395–8.

16. National Committee for Clinical Laboratory Standards (2007). *Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: Seventeenth informational supplement.* NCCLS document M100-S17, Wayne, PA: **27**, Number 1.

17. Qaiyami, S. (2007). *Macro- and Microdilution methods of antimicrobial susceptibility Testing*. In: Schwalbe, R., Steele-Moore, L., Goodwin, A.C. (Eds.), *Antimicrobial susceptibility testing protocols*. Taylor & Francis Group, CRC press, Boca Raton London, New York: 75-81.

18. Randhawa, M.A., Al-Ghamdi, M.S. (2002). A review of pharmaco-therapeutic effect of *Nigella sativa*. *Pakistan Journal of Medical Research* **41**: 1-10.

19. Riaz, M., Syed, M., Chaudhary, F.M. (1996). Chemistry of medicinal plants of

the genus *Nigella*. *Hamdard Medicus* **39**: 40-5.

20. Tahir, K., Ashour, E. (1993). The cardio-vascular actions of the volatile oil of the black seed (*Nigella sativa L.*) in rats, elucidation of mechanism of action. *General Pharmacology* **24**: 1123-31.
21. Tegos, G., Stermitz, S.R., Lomovskaya, O., Lewis, K. (2002). Multidrug pump inhibitors uncover remarkable activity of plant antimicrobials. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **46**: 3133.
22. Zuridah, H., Fairuz, A.R.M., Zakri, H.Z., Rahim, M.N.A. (2008). *In vitro* antibacterial activity of *Nigella sativa* against *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherchia coli* and *Bacillus cereus*. *Asian Journal of Plant Sciences* **7**: 331-3.

Journal of Veterinary Microbiology, Volume 8, Issue 1, 2012

Study of Antibacterial Activity of Ethanol Extract from *Nigella Sativa* against Some Important Veterinary Bacterial Pathogens

Gharibi, D.[1*], Ghorbanpoor Najafabadi, M.[1], Mohabat, A.[2]

1-Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University, Ahvaz, Iran
2- Asistant of Microbiology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University, Ahvaz, Iran

Received Date: 25 Oct 2012 *Accepted Date: 3 Dec 2012*

***Abstract**: Nowadays, multiple drug resistance and side effects such as residual drug, hypersensitivity, immune-suppression and allergic reaction has developed among humane society and animal due to the irregular use of commercial antimicrobial drugs. Therefore, use of natural compounds such as medicinal herbs for therapeutic goals is recommended. In the present study, an attempt has been made to investigate the antibacterial characteristics of Nigella sativa against ten different wild veterinary bacterial pathogens. Identification of clinical isolates from different bacteria was done on the basis of morphology, cultural characteristics and biochemical reactions. MIC and MBC were determined by macro broth dilution method using serially two folds diluted of ethanol extracts from Nigella sativa. The main bactericidal and bacteriostatic activity of ethanol extract of Nigella sativa against pathogenic bacteria were respectively as MBC (mg/ml) and MIC (mg/ml) Yersinia enterocolitica (200-100), Listeria monocytogenes (25-12.5), Corynebacterium pseudotuberculosis (12.5-12.5), C. renale (6.25-3.125), Brucella abortus (50-25), Pasteurella multocida (6.25-6.25), Mannheimia haemolytica (3.125-3.125), Escherichia coli (200-100), Trueperella (Arcanobacterium) pyogenes (6.25-3.125), Staphylococcus aureus (50-50). The highest antibacterial activity was shown against M. haemolytica with the MIC of 3.125 mg/ml and the least for E. coli and Yersinia enterocolitica with the MIC of 100 mg/ml. The result of this study showed that ethanol extract of Nigella sativa exhibited an inhibition in the growth of all examined pathogenic bacteria and this extract or the compounds derived from it can be used in control of infectious agent.*

***Key words**: Nigella sativa, ethanol extract, bacterial pathogen, veterinary medicine.*

**Corresponding author: Gharibi, D.*
Address: Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University, Ahvaz, Iran. Tel: 09132831841
Email: d.gharibi@scu.ac.ir