

## ارزیابی مقایسه‌ای تاثیر ضد باکتریایی تعدادی از آنتی بیوتیک های استاندارد و عصاره آبی زرشک، پیاز و سیر بر جدایه های کلستریدیوم پرفرینجنس

یونس انزایی\*

استادیار گروه پاتوبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، تبریز، ایران

پذیرش ۲۸ شهریور ۱۳۹۵

دریافت: ۱۲ خرداد ۱۳۹۵

### چکیده

هدف از انجام پژوهش حاضر ارزیابی مقایسه‌ای تاثیر ضد باکتریایی ۱۳ نوع از آنتی بیوتیک های استاندارد متداول و پر مصرف و عصاره آبی زرشک، پیاز و سیر بر کلستریدیوم پرفرینجنس های جدا شده از موارد آنتریت نکروتیک بوقلمون‌های پرورشی بود. بدین منظور علاوه بر انجام آزمایش آنتی بیوگرام با استفاده از آنتی بیوتیک های مذکور بر روی ۴۰ جدایه از موارد مذکور، همچنین حساسیت و یا مقاومت جدایه ها در حضور عصاره آبی زرشک، پیاز و سیر نیز آزمایش گردید. نتایج حاصله مؤید حساسیت اکثر جدایه ها نسبت به آنتی بیوتیک های کلرامفنیکل، ونکومايسين، سولفامتوکسازول+ تری متوپریم و نیز عصاره آبی زرشک و پیاز و نیز مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک های تتراسایکلین، پنی سیلین، نئومايسين سولفات و همچنین عصاره آبی سیر بود. در این خصوص بیشترین میزان تاثیر بر جدایه های مورد آزمایش مربوط به عصاره زرشک و کمترین تاثیر ضد کلستریدیایی هم مربوط به آنتی بیوتیک تتراسایکلین ثبت گردید که از نظر آماری هم با اثرات همه عصاره‌ها و آنتی بیوتیک های مورد آزمایش تفاوت معنی داری نشان دادند ( $p < 0/05$ ).

با توجه به نتایج این پژوهش و با علم بر اینکه دارو درمانی‌های بدون مطالعه در طیور صنعتی، ضمن ایجاد سویه‌های مقاوم کلستریدیوم پرفرینجنس، باعث به هم خوردن تعادل فلور طبیعی روده و بروز انواع آنتریت می‌گردد ولی داروهای گیاهی به دلیل داشتن منشاء طبیعی نسبت به داروهای شیمیایی با ارگانسیم‌های بدن طیور سازگاری بیشتری داشته و در عین حال عوارض آنها نیز نادر است، لذا به نظر می‌رسد که می‌توان از عصاره آبی گیاهانی مثل زرشک و پیاز بطور مؤثر بعنوان جایگزین آنتی بیوتیک های سنتتیک، به منظور پیشگیری، کنترل و درمان بیماری آنتریت نکروتیک بوقلمون‌های پرورشی استفاده نمود.

**کلمات کلیدی:** کلستریدیوم پرفرینجنس، آنتی بیوتیک، عصاره آبی، خاصیت ضدباکتریایی

\* نویسنده مسئول: یونس انزایی

آدرس: گروه پاتوبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، تبریز، ایران. تلفن: ۰۴۱-۳۶۳۷۲۲۷۴

پست الکترونیک: anzabi@iaut.ac.ir

## مقدمه

بیماری آنتریت نکروتیک (Necrotic Enteritis)، یکی از بیماری‌های باکتریایی در روده ماکیان و بوقلمون محسوب می‌شود که توسط باکتری کلستریدیوم پرفرینجنس ایجاد می‌گردد که قبلاً بنام کلستریدیوم ولشای نامیده می‌شد. این بیماری در واقع مسمومیتی روده‌ای است که توسط تیپ‌های A و C باکتری مذکور که تولید کننده سموم آلفا و بتا می‌باشند ایجاد می‌گردد. با توجه به نقشی که روده در جذب مواد غذایی هضم شده و آب و الکترولیت‌ها بر عهده دارد، ایجاد هرگونه ضایعه در آن نظیر آنتریت، باعث اختلال در جذب و در نتیجه کاهش رشد، افت تولید، افزایش ضریب تبدیل غذایی، تلفات وسیع و در نتیجه خسارات قابل توجه در صنعت طیور و اقتصاد کشورها می‌شود (۱ و ۲). بیماری مذکور در اروپا، آسیا و آمریکای شمالی در حال تبدیل شدن به یک بیماری عمومی است (۳).

با توجه به اینکه آنتی‌بیوتیک‌ها نقش مهمی را در درمان بسیاری از بیماری‌ها ایفا می‌کنند، لذا توسعه داروهای ضد میکروبی شیمیایی یکی از مهمترین پیشرفت‌ها در امر درمان بوده است. اما همواره استفاده از این گونه مواد شیمیایی باعث نگرانی مردم بوده است، چرا که اعتقاد عمومی در مردم آن است که مواد شیمیایی ضد میکروبی ممکن است سلامتی آنها را تهدید نمایند. در این میان انواع عصاره‌های گیاهی به دلیل داشتن منشأ طبیعی، در مقایسه با داروهای شیمیایی با ارگانسیم‌های بدن سازگاری بیشتری داشته و غالباً عوارض جانبی آنها نیز نادر بوده و احتمال ایجاد سویه‌های مقاوم باکتری‌ها بدلیل مصرف دائمی آنها نیز بعید می‌باشد. به همین دلایل استفاده از مواد طبیعی ضد میکروبی بجای آنتی‌بیوتیک‌های سنتتیک و شیمیایی از اهمیت خاصی برخوردار

می‌باشد (۵). لذا جستجوی مواد مؤثره ضدباکتریایی در میان اسانس و عصاره گیاهان با هدف کشف ساختارهای شیمیایی جدید که بر معایب ذکر شده در بالا غلبه نماید، در حال پیشرفت می‌باشد (۸). بنظر می‌رسد که استفاده از عصاره و اسانس گیاهان جایگزین بسیار مناسبی بدین منظور می‌تواند باشد چرا که بیشتر عصاره‌های گیاهی دارای موادی هستند که می‌توانند بر علیه بسیاری از میکروارگانسیم‌ها بکار روند بطوریکه تاکنون بیش از ۳۰ هزار نوع ترکیب با خاصیت ضد میکروبی از عصاره‌های مختلف گیاهان جدا شده است (۹ و ۳۸). بر همین اساس در حال حاضر استفاده از گیاهان خوراکی با مصرف پزشکی و مشتقات آنها، به دلیل داشتن ترکیبات ضد میکروبی قوی و متنوع، به طور وسیعی برای جلوگیری از رشد عوامل میکروبی بیمارزا استفاده می‌شود (۳۶ و ۳۹). مطالعات انجام گرفته در مورد خواص بیوشیمیایی و بیولوژیکی گیاهان مورد نظر در تحقیق حاضر هم به وجود مواد ضد میکروبی طبیعی فراوانی در آنها اشاره می‌کند، بطوریکه در مورد خواص ضد میکروبی پیاز قابل ذکر است که فلاوونوئیدهای پیاز ترکیبات شیمیایی هستند که در برابر میکروارگانسیم‌ها فعال می‌شوند و در محیط آزمایشگاه، در برابر رشد میکروارگانسیم‌ها اثر آنتی‌باکتریال از خود نشان می‌دهند. همچنین ترپنوئیدها و پلی‌فنل‌های کمفرول، فلاوونوئیدهای کوئرستین، آلکیل‌سیستین سولفو کساید و گالیک اسید موجود در عصاره پیاز از مهمترین ترکیبات شیمیایی آنتی‌اکسیدان، ضد عفونی کننده و ضد التهاب هستند که به عنوان آنتی‌پاتوژن‌های فعال و طبیعی، هم در محیط آزمایشگاه و هم در موارد بالینی، بر علیه اکثر میکروارگانسیم‌ها اثر آنتی‌باکتریال از خود نشان داده‌اند (۱۸ و ۲۶ و ۲۸). از طرف دیگر برخی مطالعات نیز نشان داده که گونه‌های مختلف زرشک، هم در شرایط آزمایشگاهی (Invitro)

## مواد و روش‌ها

### جداسازی و شناسایی باکتری کلستریدیوم

#### پرفرینجنس

در مطالعه حاضر جهت بدست آوردن ۴۰ جدایه کلستریدیوم پرفرینجنس از بوقلمونهای پرورشی با علائم بیماری آنتریت نکروتیک، مربوط به یکی از مراکز پرورشی بوقلمون در منطقه کلیبر در شمال استان آذربایجان شرقی و در یک دوره زمانی حدود ۳ ماهه یعنی از ابتدای شهریور تا اوایل آذر ۹۳، ابتدا سطح سروزی روده لاشه‌های مورد مطالعه، توسط تیغه اسپاتول داغ استریل گردیده و سپس موضع به وسیله بیستوری استریل برش داده شده و توسط یک لوپ استریل، مخاط روده تخریش و پس از تهیه گسترش میکروبی و انجام رنگ آمیزی گرم و اسپور و بررسی زیر میکروسکوپ، در صورت مشاهده باسیل‌های گرم مثبت و اسپوردار، تشخیص احتمالی بر مبنای وجود گونه‌ای از جنس کلستریدیوم قرار می‌گرفت. در قدم بعدی برای جداسازی کلنی خالص کلستریدیوم پرفرینجنس از نمونه‌های ذکر شده، در زیر هود و در مجاورت شعله از همان ناحیه‌ای که برای گسترش میکروبی استفاده شده بود، به میزان کافی نمونه برداری کرده و بر روی محیط آگار خون‌دار بروش خطی منطقه‌ای (Streaking Method Culture) کشت داده شده و سپس در داخل جار بی‌هوای (Anaerobic Jar, Merck-Germany) به همراه گاز پک نوع A (Anaerocult A, Merck-Germany) قرار داده شده و در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ۴۸ ساعت گرمخانه گذاری می‌شدند. برای تأیید شرایط بی‌هوایی نیز از استریپ‌های اندیکاتور (Anaerotest, Merck-Germany) استفاده می‌شد. بعد از گذشت زمان فوق‌الذکر، پلیت‌ها مورد بررسی قرار می‌گرفتند.

و هم در شرایط طبیعی (In vivo) خواص ضد باکتریایی داشته‌اند. بررسی‌های مختلف اثرات مذکور را عمدتاً به مواد مؤثره فنلی و ترکیبات آلکالوئیدی عصاره این گیاه نسبت داده و مشخص شده که مخصوصاً آلکالوئیدها از طریق اینترکالانه شدن در اسید نوکلئیک و دیواره سلولی باکتری از عملکرد طبیعی این دو قسمت مهم در سلول باکتری‌ها جلوگیری می‌کنند (۱۷). در مورد سیر هم باید اشاره کرد که خواص دارویی آن عمدتاً به دلیل حضور ماده گوگرد داری به نام آلیسین در ترکیبات تشکیل دهنده این گیاه می‌باشد. در واقع وقتی سیر خرد می‌شود آنزیمی به نام آلیناز آزاد می‌شود که این آنزیم باعث تولید آلیسین می‌شود که بوی عمده و خواص مختلف دارویی سیر مربوط به ماده مذکور می‌باشد. لازم به ذکر است که هر چه بوی سیر بیشتر باشد مواد گوگردی آن بیشتر و اثرات آن نیز به مراتب قوی‌تر می‌شود. (۱۵ و ۳۰).

با توجه به موارد ذکر شده و نظر به اهمیت اصول بهداشتی و اقتصادی در خصوص پرورش و تولید طیور سالم، در مطالعه حاضر بر آن شدیم تا علاوه بر انجام آزمایش آنتی بیوگرام با استفاده از ۱۳ نوع آنتی بیوتیک استاندارد مورد استفاده توسط مرغداران کشور، حساسیت یا مقاومت جدایه‌های کلستریدیوم پرفرینجنس مربوط به موارد آنتریت نکروتیک بوقلمون‌های پرورشی را در حضور عصاره آبی ۳ نوع گیاه بومی کشورمان یعنی زرشک، پیاز و سیر را نیز بسنجیم. بدین منظور تحقیق حاضر در آزمایشگاه بخش میکروبیشناسی گروه پاتوبیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز بر روی جدایه‌های کلستریدیوم پرفرینجنس که از بوقلمون‌های پرورشی مبتلا به آنتریت نکروتیک جدا شده بود، انجام گردید.

ابتدا دیسک‌های بلانک استریل ساخت شرکت پادتن طب (تهران- ایران) را در لوله‌های حاوی عصاره‌های آبی تهیه شده از هر یک از گیاهان مورد نظر در پژوهش حاضر بطور جداگانه قرار داده و بعد از مدت حدود ۳۰ دقیقه و پس از جذب کامل محتویات لوله مذکور توسط دیسک و اشباع شدن آنها، دیسک‌های تهیه شده را در دمای حدود ۴۵ درجه سانتی گراد قرار دادیم تا کاملاً خشک شده و در آزمایش انتشار دیسک در آگار استفاده شوند (۶ و ۱۹).

### ۳. تهیه سوسپانسیون میکروبی از جدایه‌های کلستریدیوم پرفرجنس برای انجام آزمایش

**آنتی بیوگرام:** با توجه به اینکه برای تهیه سوسپانسیون میکروبی نیاز به کشت ۲۴ ساعته از هر باکتری می‌باشد، بنابراین ۲۴ ساعت قبل از انجام هر آزمایش، ابتدا از کشت ذخیره جدایه‌های کلستریدیوم پرفرجنس بر سطح محیط کشت BHI agar تلقیح کرده و به مدت ۲۴-۴۸ ساعت در شرایط بی‌هوایی (همان شرایط ذکر شده در قسمت جداسازی باکتری کلستریدیوم پرفرجنس) و در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد گرمخانه گذاری می‌شد. سپس کلونی‌های خالص ایجاد شده در سطح محیط کشت مذکور با محلول نرمال سالین شسته می‌شد تا بصورت سوسپانسیون در آیند. در ادامه کار سوسپانسیون باکتریائی مذکور با محلول نرمال سالین طوری رقیق می‌گردید که کدورت آن معادل کدورت موجود در لوله شماره ۰/۵ استاندارد مک فارلند تنظیم گردد، بطوریکه در نهایت سوسپانسیون مورد استفاده حاوی  $1 \times 10^8$  CFU/ml از جدایه مورد نظر باشد (۶ و ۷ و ۳۱).

### ۴. آزمایش تعیین حساسیت آنتی بیوتیکی باکتری‌ها یا آزمایش آنتی بیوگرام (Antibacterial Susceptibility test): برای تعیین

مشاهده کلنی‌های بزرگ صاف و گرد با قطر حدود ۲ تا ۴ میلی‌متر با همولیز دوگانه، احتمال حضور کلستریدیوم پرفرجنس را مطرح می‌نمود. سپس این کلنی‌ها انتخاب شده و پس از انجام مجدد رنگ آمیزی گرم، آزمایش‌های سریع کاتالاز و اکسیداز بر روی آن‌ها انجام گرفته و بدنبال آنهم کشت در محیط افتراقی OF (Oxidation/Fermentation) انجام می‌گرفت. در ادامه هم برای تشخیص نهائی جدایه‌های کلستریدیوم پرفرجنس از محیط‌های افتراقی و اختصاصی مورد نیاز بر اساس پروتکل تشریح شده توسط Quinn و همکاران استفاده می‌شد (۳۱ و ۳۲).

### تعیین حساسیت یا مقاومت جدایه‌ها نسبت به آنتی بیوتیک‌ها و گیاهان مورد آزمایش

۱. آنتی بیوتیک‌های استفاده شده: سیزده نوع دیسک استاندارد مربوط به ۱۳ نوع آنتی بیوتیک متداول و موجود در بازار مصرف فعلی کشور بشرح جدول ۲ از شرکت پادتن طب (تهران- ایران) تهیه شده و مورد آزمایش قرار گرفت.

۲. عصاره‌های استفاده شده: برای انجام پژوهش حاضر از عصاره آبی زرشک، پیاز و سیر که مطابق جدول ۱ از مناطق مختلف ایران تهیه شده بود، استفاده گردید.

۲.۱. تهیه عصاره آبی گیاهان: برای تهیه عصاره آبی گیاهان مورد استفاده در پژوهش حاضر از روش تقطیر به کمک بخار آب با استفاده از دستگاه کلونجر (SCHOTT-DURAN-Germany) موجود در آزمایشگاه بهداشت مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز استفاده گردید (۳۴).

۲.۲. آماده سازی عصاره‌های استخراج شده برای انجام آزمایش آنتی بیوگرام: به این منظور

### آنالیز آماری

در پژوهش حاضر برای یافتن ارتباط بین حساسیت و مقاومت جدایه‌ها نسبت به نوع ترکیب با خاصیت ضد باکتریایی (آنتی بیوتیک و عصاره گیاهی) از آزمون آماری Independent T- test در سطح معنی داری  $p < 0/05$  استفاده گردید.

### نتایج

مطالعه در مورد خواص ضدباکتریایی ۱۳ نوع ترکیب آنتی بیوتیکی و نیز ۳ نوع عصاره گیاهی در پژوهش حاضر نسبت به جدایه‌های کلوستریدیوم پرفرینجنس بر اساس نتایج ثبت شده در جدول ۲، مؤید آن است که غالب جدایه‌های کلوستریدیوم پرفرینجنس در این بررسی نسبت به کلرامفنیکل و سولفامتوکسازول+ تری متوپریم و نیکومایسین دارای حساسیت بسیار بالایی بودند در حالیکه بیشتر جدایه‌های مذکور نسبت به آنتی بیوتیک‌های تتراسایکلین، پنی سیلین و نئومایسین سولفات مقاومت دارویی نشان دادند. از طرف دیگر نتایج این بررسی نشان داد که اکثر جدایه‌های مورد آزمایش نسبت به عصاره آبی زرشک و پیاز نیز حساس بوده و یا مقاومت اندکی داشتند، در حالی که بسیاری از جدایه‌ها نسبت به عصاره آبی سیر مقاومت بالایی را نشان دادند. همچنین با استفاده از آزمون آماری Independent T- test مشخص گردید که بین آنتی بیوتیک‌های مختلف و عصاره‌های آبی گیاهان استفاده شده در پژوهش حاضر و مقاومت یا حساسیت جدایه‌های باکتری کلوستریدیوم پرفرینجنس مورد آزمایش در رنج  $p < 0/05$  ارتباط معنی دار وجود دارد.

حساسیت جدایه‌های کلوستریدیوم پرفرینجنس نسبت به ۱۳ نوع آنتی بیوتیک و نیز ۳ نوع عصاره آبی گیاهی، آزمایش مذکور با استفاده از محیط کشت اختصاصی Mueller-Hinton agar (Merck-Germany) و به روش انتشار دیسک در آگار بر مبنای استاندارد Kirby-Bauer انجام گردید. بدین منظور ابتدا با استفاده از ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون خالص جدایه‌های مورد آزمایش که کدورت آن معادل کدورت لوله استاندارد ۰/۵ مک فارلند تنظیم گردیده بود، بر سطح پلیت محیط مولر هینتون آگار کشت یکنواخت بصورت پخش کردن انجام می‌شد. در مرحله بعد با استفاده از پنس استریل دیسک‌های آغشته شده به عصاره‌های مورد نظر در این تحقیق و همچنین دیسک‌های استاندارد مربوط به آنتی بیوتیک‌های مورد نظر در پژوهش حاضر، در سطح محیط کشت مذکور قرار می‌گرفت. سپس پلیت‌های مذکور به مدت ۲۴-۴۸ ساعت در شرایط بی‌هوازی (همان شرایط ذکر شده) و در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد گرمخانه گذاری شده و در نهایت، نتایج اثر ضدباکتریایی آن‌ها با اندازه‌گیری قطر منطقه عدم رشد اطراف دیسک‌ها با استفاده از خط کش مدرج ثبت می‌شد. برای حصول اطمینان، این آزمایش در هر مورد سه بار تکرار شده و در نهایت میانگین قطر منطقه عدم رشد محاسبه شده و بر اساس آن میزان قدرت ضد باکتریایی عصاره‌های گیاهی و آنتی بیوتیک‌های مورد آزمایش با توجه به جدول استاندارد آزمایش آنتی بیوگرام شرکت پادتن طب (تهران- ایران) ثبت می‌شد. همچنین در آزمایش مذکور از دیسک بلانک آغشته به مقدار ۱۰ میکرو لیتر از آب مقطر استریل به عنوان کنترل منفی نیز استفاده می‌گردید (۶ و ۱۰ و ۱۳ و ۱۶ و ۲۷).

جدول ۱) مشخصات کلی گیاهان استفاده شده				
نام علمی گیاه مورد استفاده	نام لاتین گیاه	نام بومی گیاه	اندام استفاده شده از هر گیاه	محل تهیه گیاه خوراکی مورد آزمایش
<i>Berberis vulgaris</i>	Barberry	زرشک	میوه	منطقه بیرجند - استان خراسان جنوبی - شمال شرق ایران
<i>Allium cepa L.</i>	Onions	پیاز	ریشه غده‌ای	منطقه ایلخچی - استان آذربایجان شرقی - شمال غرب ایران
<i>Allium sativum L.</i>	Garlic	سیر	ریشه غده‌ای	منطقه رشت - استان گیلان - شمال ایران

جدول ۲) وضعیت حساسیت و مقاومت کلوستریدیوم پرفرینجنس های جدا شده از موارد آنتریت نکروتیک بوقلمون‌های پرورشی نسبت به ۱۳ نوع آنتی بیوتیک و ۳ نوع عصاره مورد آزمایش

نام آنتی بیوتیک و عصاره استفاده شده	تعداد و درصد جدایه‌های مقاوم	تعداد و درصد جدایه‌های نیمه حساس	تعداد و درصد جدایه‌های حساس
ونکومايسين	۸ (۲۰٪)	صفر (۰٪)	۳۲ (۸۰٪)
اریترومایسین	۱۲ (۳۰٪)	۲۷ (۶۷٪)	۱ (۲٪)
تایلوزین	۱۱ (۲۷٪)	۱۹ (۴۷٪)	۱۰ (۲۵٪)
سولفامتو کسازول + تری متوپریم	۱۲ (۳۰٪)	صفر (۰٪)	۲۸ (۷۰٪)
آمی سیلین	۱۱ (۲۷٪)	۱۳ (۳۲٪)	۱۶ (۴۰٪)
پنی سیلین	۲۳ (۵۷٪)	۵ (۱۲٪)	۱۲ (۳۰٪)
نئومايسين سولفات	۲۱ (۵۲٪)	صفر (۰٪)	۱۹ (۴۷٪)
انزوفلوکسازین	۱۶ (۴۰٪)	۳ (۷٪)	۲۱ (۵۲٪)
کلستین	۱۶ (۴۰٪)	۱۹ (۴۷٪)	۵ (۱۲٪)
تتراسایکلین	۳۲ (۸۰٪)	۵ (۱۲٪)	۳ (۷٪)
کلرامفنیکل	۳ (۷٪)	۷ (۱۷٪)	۳۰ (۷۵٪)
نورفلوکسازین	۱۳ (۳۲٪)	۴ (۱۰٪)	۲۳ (۵۷٪)
لینکوسپکین	۱۳ (۳۲٪)	۴ (۱۰٪)	۲۳ (۵۷٪)
عصاره آبی زرشک	۲ (۵٪)	۲ (۵٪)	۳۶ (۹۰٪)
عصاره آبی پیاز	۲ (۵٪)	۱ (۲٪)	۳۷ (۹۲٪)
عصاره آبی سیر	۳۵ (۸۷٪)	۳ (۷٪)	۲ (۵٪)

## بحث و نتیجه گیری

نتایج پژوهش حاضر مطابق جدول ۲ مشخص کرد که غالب جدایه های مورد آزمایش نسبت به آنتی بیوتیک های کلرامفنیکل، ونکومايسين، سولفامتو کسازول + تری متوپریم و نیز عصاره آبی زرشک و پیاز حساس بوده و یا مقاومت اندکی داشتند در حالیکه نسبت به آنتی بیوتیک های تتراسایکلین، پنی سیلین، نئومايسين سولفات و همچنین عصاره آبی سیر مقاومت بالائی را نشان دادند. در این ارتباط در تحقیقی که توسط Tansuphasiriu و همکاران در سال ۲۰۰۵ بر روی ۲۰۱ جدایه کلوستریدیوم پرفرینجنس با استفاده از ۷ آنتی

بیوتیک متداول انجام شده، مشخص گردید که بیشترین مقاومت این جدایه‌ها به ترتیب در برابر تتراسایکلین (شامل ۵۶/۲٪ موارد)، ایمینوم (شامل ۲۴/۹٪ موارد)، مترونیدازول (شامل ۹/۵٪ موارد)، پنی سیلین G (شامل ۹٪ موارد)، ونکومايسين (شامل ۴/۵٪ موارد)، کلرامفنیکل (شامل ۳٪ موارد) و سفتراکسون (شامل ۱٪ موارد) بود (۳۷). در مطالعه حاضر هم طیف و میزان مقاومت جدایه‌ها نسبت به ترکیبات ضدباکتریایی گسترده و متفاوت بود، به طوری که جدایه‌های کلوستریدیوم پرفرینجنس مورد بررسی بیشترین مقاومت را نسبت به آنتی بیوتیک تتراسایکلین با ۸۰٪ موارد و

بخش نتایج، بیشترین حساسیت جدایه های کلستریدیوم پرفرجنس مربوط به بوقلمون‌های پرورشی در پژوهش حاضر نسبت به آنتی بیوتیک ونکومايسين (۸۰٪ موارد) و نیز بیشترین میزان مقاومت هم نسبت به آنتی بیوتیک تتراسایکلین (۸۰٪ موارد) مشاهده گردید. با توجه به اینکه به احتمال قوی مطالعه حاضر اولین مطالعه مشخص در ارتباط با بررسی مقاومت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌های کلستریدیوم پرفرجنس از موارد بیماری آنتی‌بیوتیک بوقلمون‌های پرورشی در ایران می‌باشد و با توجه به مشاهده مقاومت بالا نسبت به آنتی‌بیوتیک تتراسایکلین، می‌توان اعلام کرد که احتمالاً وجود سطح بالای مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک مذکور، ناشی از وجود ژن‌های مقاومت در باکتری مذکور می‌باشد. از طرف دیگر با توجه به نتایج ثبت شده در جدول ۲ پژوهش حاضر، مشخص گردید که جدایه‌های کلستریدیوم پرفرجنس مورد مطالعه حساسیت نسبی در مقابل آمپی‌سیلین نشان داده‌اند (۴۰٪). این در حالی است که در تحقیقات Johansson و همکاران که در سوئد، نروژ و همچنین دانمارک انجام گرفته، مشخص شده که ۱۰۰٪ جدایه‌های کلستریدیوم پرفرجنس نسبت به آمپی‌سیلین حساس بوده‌اند (۲۱). این موضوع نشان دهنده عدم همخوانی یافته‌های تحقیق حاضر با نتایج پژوهش مذکور در این زمینه می‌باشد. بنظر می‌رسد که این تفاوت بیشتر بدلیل مصرف بی‌رویه گروه آنتی بیوتیک‌های دارای حلقه بتا لاکتام در کشور ما می‌باشد. در عین حال به دلیل فراهم نبودن امکانات لازم برای کشت و جداسازی علمی و استاندارد باکتری‌های بی‌هوازی مخصوصاً کلستریدیومها، غالباً داروهای استفاده شده به صورت کورکورانه و تنها بر اساس تجربه کلینیسین ها و پرورش دهندگان، برای گله مبتلا تجویز می‌گردد، که این خود

همچنین کمترین مقاومت را هم نسبت به آنتی بیوتیک‌های کلرامفنیکل با ۷/۵ درصد و نیز پنی‌سیلین و ونکومايسين هر دو با ۲۰٪ موارد نشان دادند که نتایج مذکور بسیار مشابه با نتایج پژوهش ذکر شده می‌باشد. همچنین در تحقیقی مشابه با پژوهش حاضر، Martel و همکاران در سال ۲۰۰۴ حساسیت جدایه‌های کلستریدیوم پرفرجنس که از روده طیور گوشتی در بلژیک جدا شده بودند را نسبت به ۱۲ ترکیب آنتی‌بیوتیکی بررسی کرده و یافته‌های مشابهی با نتایج پژوهش حاضر ارائه نموده‌اند. هرچند در مطالعه مذکور اندکی کاهش در میزان درصد مقاومت نسبت به تتراسایکلین و مقداری هم افزایش در میزان درصد مقاومت نسبت به لینکومايسين در مقایسه با مطالعات گذشته، گزارش گردیده است. همچنین نیک پیران و همکاران در سال ۱۳۸۶ الگوی مقاومت دارویی جدایه‌های کلستریدیوم پرفرجنس از موارد حاد بیماری آنتی‌بیوتیک مربوط به گله‌های گوشتی طیور را در مقابل ۲۰ نوع ترکیب ضد میکروبی مختلف ارزیابی نموده و نشان دادند که مشابه نتایج مطالعه حاضر درصد بالایی از مقاومت نسبت به بعضی از آنتی‌بیوتیک‌ها مانند لینکومايسين و تتراسایکلین دیده شده است (۳ و ۲۳). Johansson و همکاران نیز در پژوهشی در سال ۲۰۰۴ نشان دادند که مقاومت نسبت به تتراسایکلین در جدایه‌های باکتری کلستریدیوم پرفرجنس در نمونه‌های مربوط به کشورهای سوئد حدود ۷۶٪، دانمارک حدود ۱۰٪ و نروژ نیز حدود ۲۹٪ بوده است. همچنین در پژوهش نامبردگان مشخص گردیده که ۱۰۰٪ جدایه‌های کلستریدیوم پرفرجنس مربوط به ماکیان نسبت به داروی ونکومايسين حساسیت نشان داده‌اند (۲۱). این یافته‌ها با نتایج پژوهش حاضر تا حدود زیادی همخوانی دارد، چرا که مطابق جدول ۲



می‌تواند عاملی برای مصرف نابجا و بی‌رویه آنتی‌بیوتیک‌ها باشد، که می‌تواند دلیل مهم دیگری برای بروز مقاومت جدایه‌های کلاستریدیوم پرفرینجنس نسبت به برخی از ترکیبات دارویی نظیر پنی‌سیلین، نئوماکسین سولفات، تتراسایکلین و نورفلوکساسین باشد (۳ و ۱۴). از طرف دیگر با توجه به پژوهش‌های مشابهی که در گذشته در این زمینه انجام گرفته بنظر می‌رسد که علت وجود حساسیت نسبت به بعضی از آنتی‌بیوتیک‌ها در پژوهش حاضر و عدم همخوانی با نتایج پژوهش‌های مشابه را می‌توان به میزان استفاده عملی از این ترکیبات ضدباکتریایی در سطح مزارع پرورش مناطق مختلف طیور نسبت داد بطوریکه براین اساس علت حساسیت بالای جدایه‌های کلاستریدیوم پرفرینجنس (۸۰٪ موارد) در پژوهش حاضر در برابر داروی ونکوماکسین را می‌توانیم در عدم استفاده از این دارو به صورت تجاری در صنعت پرورش طیور کشورمان بدانیم (۲۰). در عین حال این مسئله موید اهمیت استفاده از داروها و ترکیبات جدید ضدباکتریایی می‌باشد. بطوریکه در این خصوص بررسی‌ها نشان می‌دهد که در تحقیقات مختلف عملکرد ضد میکروبی ترکیبات موجود در گیاهان زرشک، پیاز و سیر (گیاهان مورد آزمایش در پژوهش حاضر) بر علیه طیف وسیعی از میکروارگانیسم‌ها نشان داده شده است (۱۵ و ۱۷ و ۱۸). البته در این خصوص نتایج ثبت شده در جدول ۲ مطالعه حاضر هم خاصیت ضد کلاستریدیایی عصاره آبی زرشک را بخوبی نشان داده و علی‌رغم اینکه با نتایج ارائه شده در برخی از مطالعات قبلی در این مورد مشابه است ولی در برخی موارد هم همخوانی ندارد، بطوریکه در پژوهش چیتساز در سال ۲۰۰۶ علی‌رغم مشاهده اثرات ضد میکروبی از عصاره الکلی زرشک، از عصاره آبی و جوشانده این گیاه هیچ نوع فعالیت ضد

میکروبی گزارش نشده است (۱۱). در حالیکه نتایج تحقیق ما نشان داد که حساسیت جدایه‌های کلاستریدیوم پرفرینجنس مورد آزمایش نسبت به عصاره آبی زرشک شامل ۹۰٪ جدایه‌ها می‌باشد. همچنین نتایج برخی تحقیقات مشابه نشان داده که عصاره خام پیاز بر سودوموناس آئروژینوزا مؤثر و بر کانیدیا آلیکاناس دارای اثر ضعیف ولی بر روی استافیلوکوکوس آئروس و اشیشیا کولای بی‌تأثیر بوده است. نتایج پژوهش مؤمنی و همکاران نیز نشان داده که عصاره آب گرم پیاز اثر ضد میکروبی بر روی هیچ میکروارگانیسمی نداشته است (۲۶). یافته‌های تحقیقات مذکور هم همخوانی با نتایج پژوهش حاضر را نشان نمی‌دهد چرا که نتایج ثبت شده در جدول ۲ تحقیق ما نشان داد که حداقل ۹۲/۵٪ از جدایه‌های کلاستریدیوم پرفرینجنس نسبت به عصاره آبی پیاز حساس بودند. البته این یافته در عین حال با بسیاری از نتایج تحقیقات مشابه همخوانی دارد چرا که اکثر مطالعات در گذشته نشان داده که انواع مختلف عصاره‌های پیاز، اثرات ضد میکروبی بر روی طیف وسیعی از میکروارگانیسم‌ها را داشته است (۱۸ و ۲۸ و ۳۳). از طرف دیگر در مطالعات اخیر خاصیت ضد میکروبی سیر با آنتی‌بیوتیک‌های مختلف از جمله پنی‌سیلین، استرپتومایسین، کلرامفنیکل، اریتروماکسین و تتراسایکلین مقایسه و نشان داده شده که استفاده از سیر در مقایسه با آنتی‌بیوتیک‌های ذکر شده، باعث کاهش چشمگیر کلی فرم‌ها و میکروارگانیزم‌های بی‌هوازی در مدفوع می‌شود (۱۵ و ۳۰). این در حالیست که در پژوهش حاضر از عصاره آبی سیر خاصیت ضد میکروبی مناسبی بر علیه جدایه‌های باکتری بی‌هوازی کلاستریدیوم پرفرینجنس مشاهده نشد، بطوریکه مطابق جدول ۲ تعداد ۳۵ جدایه از ۴۰ جدایه مورد آزمایش (۸۷/۵٪ موارد) در قبال آن مقاومت نشان دادند و لذا در



مورد آزمایش مربوط به عصاره پیاز و کمترین تأثیر هم مربوط به آنتی بیوتیک تترا سایکلین بود که از نظر آنالیز آماری هم با اثرات همه عصاره‌ها و آنتی بیوتیک های مورد آزمایش تفاوت معنی داری نشان دادند ( $p < 0/05$ ). البته در عین حال در این مورد، نتایج پژوهش حاضر همسو با یافته‌های پژوهش موهان نیر و همکاران در سال ۲۰۰۵ می‌باشد چرا که نامبردگان هم نشان دادند که عصاره سیاه دانه مورد آزمایش آنان عملکرد بهینه‌ای در شرایط آزمایشگاهی بر علیه باکتری پاتوژن لیستریا مونوسایتوژنز داشته است. همچنین در تأیید این همسوئی، به پژوهش انزابی و خاکی در سال ۲۰۱۵ می‌توان اشاره کرد چرا که نامبردگان نیز نشان دادند که اسانس و عصاره اتانولی کاکوتی کوهی اثرات ضد باکتریایی مناسبی بر جدایه های گرم مثبت و گرم منفی مربوط به عفونتهای دستگاه ادراری موشهای صحرایی، بعنوان مدل آزمایشگاهی داشته و اثرات ضدباکتریایی ترکیبات گیاهی مذکور بسیار بیشتر از آنتی بیوتیک های استاندارد جنتامایسین و آمیکاسین بوده است (۶ و ۲۵).

در نهایت با توجه به نتایج پژوهش حاضر و با استفاده از آزمون آماری مورد استفاده در پژوهش حاضر، می‌توان نتیجه گرفت که می‌شود از عصاره‌های آبی گیاهان بومی و خوراکی زرشک و پیاز به عنوان جایگزینی مناسب بجای آنتی بیوتیک های شیمیایی سنتتیک استفاده شده در این تحقیق برای مقابله با باکتری کلستریدیوم پرفرینجنس استفاده نمود. البته به نظر می‌رسد که لازم است بررسیهای دقیق و تکمیلی فیتوشیمیایی به همراه بررسی خواص ضد میکروبی در مدل‌های حیوانی هم در مورد عصاره گیاهان مورد آزمایش در این تحقیق انجام پذیرد تا خاصیت ضد کلستریدیایی ترکیبات مذکور، دقیق تر مشخص گردد تا احتمالاً بتوان به جایگزینی مؤثر عصاره‌های مذکور به جای آنتی بیوتیک

این مورد هم نتایج پژوهش ما با یافته‌های تحقیقات ذکر شده همخوانی نشان نداد. در این خصوص به نظر می‌رسد که نوع حلال و روش عصاره گیری تأثیر عمده‌ای در ایجاد تفاوت در نتایج پژوهش‌های مشابه داشته باشد، چرا که این امر علاوه بر اینکه در کمیت و کیفیت مواد مؤثره موجود در گیاهان مؤثر است، می‌تواند در عملکرد دارویی آنها از جمله اثرات ضد میکروبی آنها نیز دخیل باشد (۱۲ و ۲۴). همچنین در توجیه اختلافات مشاهده شده می‌توان به این موضوع هم اشاره کرد که برخی از پژوهشگران اعلام نموده‌اند که مقایسه نتایج مشاهده شده در مورد خواص ضد باکتریایی عصاره‌های گیاهان بسیار مشکل می‌باشد که از دلایل این مسئله به تفاوت در روش‌های مختلف آزمایشگاهی استفاده شده در بررسی خواص ضد باکتریایی اسانس‌ها و عصاره‌ها، سویه و نوع گیاه و منابع تهیه آنها، مرحله رشد گیاه و نیز سویه باکتری‌های مورد آزمایش، اشاره شده است (۲۲). در عین حال با توجه به اینکه یک نوع گیاه در مناطق مختلف می‌تواند ترکیبات و خواص متفاوتی را از خود به نمایش بگذارد به نظر می‌رسد که می‌توان وجود تفاوت‌هایی بین نتایج بررسی ما با نتایج سایر مطالعات مشابه را ناشی از وجود اختلاف در نوع گیاهان مورد استفاده هم دانست (۳۴).

ارزیابی نهایی یافته‌های این پژوهش نشان داد که اثر ضد کلستریدیایی عصاره پیاز و زرشک در مقایسه با اثر اکثر آنتی بیوتیک های استاندارد مورد آزمایش بسیار بیشتر و قابل توجه می‌باشد و نتایج آنالیز آماری این تحقیق هم مشخص کرد که تفاوت معنی داری بین اثر ضد کلستریدیایی عصاره آبی پیاز و زرشک و بیشتر آنتی بیوتیک‌های استاندارد مورد آزمایش مشاهده می‌گردد ( $p < 0/05$ ). در این خصوص لازم به ذکر است که بیشترین میزان تأثیر ضد کلستریدیایی بر جدایه های

Isolated Bacteria in Rats' Experimental Model. *Medical Journal of Tabriz University of Medical Sciences and Health Services*. **37**: 18-25.

7. Babayi, L., Kolo, J.I., Ijah, U.J. (2004). The antimicrobial activities of methanolic extracts of *Eucalyptus camaldulensis* and *Terminalia catappa* against some pathogenic microorganisms. *Biochemistry*. **16**: 106- 110.
8. Bouamama, H., Noel, T., Villard, J., Benharref, A. (2006). Antimicrobial activities of the leaf extracts of two Moroccan *cistus* L. *Journal of Species Ethnopharmacology*. **33**:104-107.
9. Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential application in food- a review. *International Journal of Food Microbiology*. **94**: 223-53.
10. Centers for Disease Control and Prevention. (2003). enteric bacteria: 2001 annual report; Atlanta, Ga. *National Antimicrobial Resistance Monitoring System*.
11. Chitsaz, M. (2006). In vitro Evaluation of Antibacterial Effect of *Stachys schtschegleevii*. *Daneshvar Medical Journal*. **67**:12-19. [In Persian]
12. Chyun, J.C., Huang, L. (2007). Ginger and its bioactive component inhibit enterotoxigenic *Escherichia coli* heat-labile enterotoxin-induced diarrhea in mice. *J. Agric. Food Chem*. **55**: 8390-7.
13. Clinical and Laboratory Standards institute. (2013). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing Twenty-Third Informational Supplement, *M100-S23.CLSI*. Pennsylvania.
14. Devriese, L.A., Daube, G., Hommez, J. and Haesebrouck, F. (1993). In vitro susceptibility of *clostridium perfringens* isolated from farm animals to growth-enhancing antibiotics. *Journal of Applied Bacteriology*. **75**: 55-57.
15. Ekwenye, U.N. and Elegalam, N.N. (2005). Antibacterial Activity of Ginger (*Zingiber officinale roscoe*) and Garlic (*Allium sativum* L.) Extracts on *Escherichia coli* and *Salmonella typhi*. *International Journal of Molecular Medicine and Advance Sciences*. **1**: 411- 416.
16. Fiebelkorn K.R, Crawford S.A, McElmeel M.L. and Jorgensen J.H. (2003). Practical

های استاندارد مورد آزمایش برای پیشگیری، کنترل و درمان بیماری مهم و اقتصادی آنتریت نکروتیک بوقلمون‌های پرورشی اقدام نمود.

## تشکر و قدردانی

بدینوسیله مراتب تقدیر و تشکر خود را از کلیه مسئولین محترم دانشگاه آزاد اسلامی واحدهای تبریز و کلیبر و کارشناسان زحمتکش بخش میکروبیشناسی گروه پاتوبیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز مخصوصاً آقای علی توپچی که در به نتیجه رسیدن پژوهش حاضر، ما را یاری فرمودند، اعلام می‌داریم.

## منابع

۱. اوحدی نیا، ح، ۱۳۶۹، اصول مرغداری و بیماریهای طیور. انتشارات اشرفی. صفحات ۲۵۶-۲۷۹.
۲. بزرگمهری فرد، م، ۱۳۷۷، بیماری‌های طیور. انتشارات واحد آموزش و پژوهش معاونت کشاورزی سازمان اقتصادی کوثر. صفحات ۱۱۰- ۲۴۵.
۳. نیک پیران، ح، شجاعدوست، ب، پیغمبری، س، م، ۱۳۸۶. تعیین الگوی مقاومت دارویی جدایه‌های کلستریدیوم پرفرینجنس از موارد حاد بیماری آنتریت نکروتیک. مجله علوم تخصصی دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، دوره ۱، شماره ۴، زمستان ۱۳۸۶. صفحات: ۲۷۷- ۲۸۶.
۴. نیک پیران، ح، شجاعدوست، ب، پیغمبری، س، م، ۱۳۸۷. ایجاد تجربی بیماری آنتریت نکروتیک در جوجه‌های گوشتی با استفاده از جدایه‌های *Clostridium perfringens* از موارد حاد بیماری در ایران. مجله تحقیقات دامپزشکی. دوره ۶۳. شماره ۳. صفحات ۱۲۷- ۱۳۲.
5. Ainswort, C. (2000). The Molecular Biology of Dioecious Plants *Annals of Botany. Journal of Ethnopharmacology*. **86**, 211-221.
6. Anzabi Y, Khaki A. (2015). Antibacterial Effects of the Essential Oils and Ethanol Extracts of the Native Plants; *Ziziphora Clinopodioides* on 3 Species of Urinary Tract



- officinale R. Br. In Mazandaran. *Iranian Journal of Plant Physiology*. **3**:659-664.
25. Mohan Nair MK, Vasudevan P and Venkitanarayanan k. (2005). Antibacterial effect of black seed oils on *Listeria monocytogenes*. *Journal of Food Control*. **16**:395-398.
  26. Momeni, L. and Zamanzad, B. (2010). The antibacterial properties of *Allium cepa* (onion) and *Zingiber officinale* (ginger) extracts on *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* and *Candida albicans* isolated from vaginal specimens. *Journal of Shahrekord University of Medical Sciences*. **11**:81-87.
  27. National Committee for Clinical Laboratory Standards. (2002). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, 12th informational supplement.. *NCCLS document, M100-S12*. Wayne, Pa; National Committee for Clinical Laboratory Standards.
  28. Nelson, C and Regiland, A. (2007). Antimicrobial properties of extracts of *Allium cepa* and *Zingiber officinale* (ginger) on *Escherichia coli*, *Salmonella typhi* and *Bacillus subtilis*. *International Journal of Tropical Medicine*. **3**:1540.
  29. Nostro, A., Germano, M.P., Angelo, V.A., Marino, A., Connatelli, M.A. (2000). Extraction methods and bioautography for evaluation of medicinal plant antimicrobial activity. *Letters in Applied Microbiology*. **30**: 389-394.
  30. Orojalian, F., Kasra kermanshahi, R. (2001). Study of Phytochemical and antibacterial properties of the *Achillea eriophora* essential oil with Microdilution Method. *Journal of Horticultural Science*. **24**:109-115.
  31. Quinn, P.J., Carter, M.E., Markey, B. K. and Carter, G.R. (1994). *Clinical Veterinary Microbiology*. Wolfe publishing, London, UK: 191-208.
  32. Quinn, P.J., Carter, M.E., Markey, B.K., Donnelly, W.J. and Leonard, F.C. (2002). *Veterinary Microbiology and Microbial Disease*. Blackwell publishing, Iowa State press, USA: 28-35.
  33. Razavi Rohani, S.M., Moradi, M., Mehdizadeh, T. (2011). Antibacterial combined effects of nisin and onion essential oil under different concentration Disk Diffusion Method for Detection of Inducible Clindamycin Resistance in *Staphylococcus aureus* and Coagulase-Negative Staphylococci. *Journal of Clinical Microbiology*. **41**:4740-4744.
  17. Freile, M.L., Giannini, F., Pucci, G., Sturniolo, A., Rodero, L., Pucci, O., Balzareti, V., Enriz, R.D. (2003). Antimicrobial activity of aqueous extracts of berberine isolated from *Berberis heterophylla*. *Fitoterapia Journal*. **74**:702-5.
  18. Griffiths, G., Trueman, L., Crowther, T., Thomas, B. and Smith, B. (2002). Onions – A global benefit to health. *Phytotherapy Research*. **16**: 603-615.
  19. Inouye, Sh., Takizawa, T., Yamaguchi, H. (2001). Antibacterial activity of essential oils and their major constituents against respiratory tract pathogens by gaseous contact. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. **47**:565-573.
  20. Ito, N.M.K., Miyaji, C.I., Lima, E.A., Okabayashi, S., Claire, R, A. and Graca, E. O. (2004). Entero-hepatic pathobiology: Histopathology and semi – quantitative bacteriology of the duodenum. *Brazilian Journal of Poultry Science*. **6**: 31- 40.
  21. Johansson, A., Greko, C., Engstrom, B.E. and Karlsson, M. (2004). Antimicrobial susceptibility of Swedish, Norwegian and Danish isolates of *clostridium perfringens* from poultry, and distribution of tetracycline resistance genes. *Veterinary Microbiology*. **99**: 251-7.
  22. Mashak Z, Moradi B, Akhonzdade A, Abasifar A and Gandomi H. (2008). Study the behavior of *Listeria monocytogenes* during the production process of Iranian white cheese under the influence of *Zataria multiflora* Boiss essential oils. *Journal of Medicinal Plants*. **29**:114-122. [In Persian]
  23. Martel, A., Devriese, L.A., Cauwerts, K., De Gussem, K., Decostere A, and Haesebrouck, F. (2004). Susceptibility of *clostridium perfringens* strains from broiler chickens to antibiotics and anticoccidials. *Avian pathology*. **33**:3-7.
  24. Mazandarani, M., Momeji, A., Zarghami Moghaddam, P. (2013). Evaluation of phytochemical and antioxidant activities from different parts of *Nasturtium*

- of NaCl and pH against *Listeria monocytogenes* in vitro. *Food hygiene Journal*. **1**:25-34. [In Persian]
34. Salehi P, Sonboli A, Eftekhari F, Nejad-Ebrahimi S, Yousefzadi M. (2005). Essential oils composition, antibacterial and antioxidant activity of the oils and various extracts of *Ziziphora clinopodioides* subsp. *rigida* (BOISS.) RECH. f. from Iran. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*. **28**:1892-1896.
35. Singh A, Singh RK, Bhunia AK and Singh N. (2003). Efficacy of plant essential oils as antimicrobial agents against *Listeria monocytogenes* in hotdogs. *Food Science & Technology*. **36**:787-794.
36. Tajkarimi, M. M., Ibrahim, S.A. and Cliver, D.O. (2010). Antimicrobial herb and spice compounds in food. *Journal of Food Control*. **21**:1199-1218.
37. Tansuphasiriu, M.W and Sang S.K.L. (2005). Antimicrobial Resistance among *clostridium perfringens* isolated from various sources in Thailand. *Southeast Asian Journal Tropical Medicine Public Health*. **36**:954-61.
38. Thuille, N., Fille, M., Nagl, M. (2003). Bactericidal activity of herbal extracts. *International Journal Hygiene and Environmental Health*. **206**: 217-21.
39. Tiwari, B.K., Valdramidis, V.P., O. Donnell, C.P., Muthukumarappan, K., Bourke, P. and Cullen, P.J. (2009). Application of natural antimicrobial for food preservation. *Journal of Agricultural Food Chemistry*. **57**:5987-6000.

## **Evaluation of Antibacterial Effect of Some Standard Antibiotics and The Aqueous Extracts of *Berberis Vulgaris*, *Allium Cepa L.* and *Allium Sativum L.* on *Clostridium Perfringenes* Isolates**

**Anzabi, Y.**

*Assistant Professor, Department of Pathobiology, Tabriz Branch,  
Islamic Azad University, Tabriz, Iran*

*Received Date: 1 June 2016*

*Accepted Date: 18 September 2016*

---

### **Abstract**

*The aim of this study was to evaluate the anti-bacterial effect of 13 common and costly kinds of the standard antibiotics and the aqueous extracts of Berberis, Onions and Garlic on Clostridium perfringenes isolates from cases of necrotic enteritis of breeding Turkeys. For this purpose, in addition to the Antibiogram tests using with those antibiotics on 40 isolates of Clostridium perfringens of breeding Turkeys with necrotic enteritis, as well as the susceptibility of isolates was tested in the presence of aqueous extracts of barberry, onions and garlic too. Results were confirmed that majority of isolates were sensitive to the antibiotics of Chloramphenicol, Vancomycin, Sulfamethoxazole+Trimethoprim and aqueous extracts of Barberry and Onions; as well as were resistance to the antibiotics of Tetracycline, Penicilline, Neomycin sulfate and aqueous extracts of Garlic. In this regard, the most effective on tested isolates for the extracts of barberry and the lowest anti-clostridial impact was recorded related to the antibiotic of Tetracycline that statistically; with the effects of all tested antibiotics and extracts were showed significant difference ( $p<0.05$ ). The results of this study and the knowledge that no study medication in commercial poultry; in addition to resistant strains of Clostridium perfringens and causing the imbalance of normal flora of intestinal and subsequently the incidence of enteritis. But herbal medicines due to the natural origin of the drugs at the same time more consistent with organisms of poultry's body and their complications are rare. It seems that we can be used from aqueous extracts of plants; like Barberry and Onions effectively, as an alternative to synthetic antibiotics for prevention, control and treatment of necrotic enteritis in breeding Turkeys.*

**Keywords: Clostridium perfringenes, antibiotic, aqueous extracts, antibacterial effect**

---

*\*Corresponding author: Anzabi, Y.*

*Address: Department of Pathobiology, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran. Tel: +9841-36372274*

*Email: anzabi@iaut.ac.ir*