مطالعه اثرات ضد میکروبی عصاره اتانولی گیاه علف مار بومی سیستان بر روی *سالمونلا تیفی‌موریوم* مقاوم به آنتی‌بیوتیک

علی مقصودی*[۳،۲،۱]، سعیده سعیدی[۳]

۱- گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران
۲- گروه بیوانفورماتیک، دانشگاه زابل، زابل، ایران
۳- پژوهشکده زیست فناوری کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران

دریافت مقاله: ۱۱ آذر ۱۳۹۶، بازنگری: ۱۸ دی ۱۳۹۶، پذیرش نهایی: ۱۳ اسفند ۱۳۹۶

چکیده

امروزه خواص ضد باکتریایی عصاره گیاهان دارویی به عنوان یک جایگزین مناسب برای آنتی‌بیوتیک‌ها مورد توجه است. هدف از این مطالعه بررسی اثرات ضد میکروبی عصاره‌ی برگ گیاه علف مار بر روی *سالمونلا تیفی‌موریوم* (*Salmonella typhmurium*) جدا شده از طیور در شرایط آزمایشگاهی بود. عصاره اتانولی گیاه علف مار با استفاده از دستگاه خلاء از مرکز (روتاری) استخراج شد. همچنین تعداد ۱۲ سویه باکتری *سالمونلا تیفی‌موریوم* نیز از طیور زابل جداسازی شد. حداقل غلظت بازدارندگی و حداقل غلظت کشندگی عصاره الکلی گیاه در غلظت‌های مختلف با روش رقت‌سازی در چاهک بر روی باکتری‌ها تعیین شد. حساسیت سویه‌ها به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف نیز با روش استاندارد دیسک دیفیوژن کربی بائر مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که سویه‌های *سالمونلا تیفی‌موریوم* به آنتی‌بیوتیک‌های پنی‌سیلین (۱۰۰ درصد)، آمپی‌سیلین (۱۰۰ درصد)، تتراسیکلین (۱۶/۶ درصد) و آمیکاسین (۸/۳ درصد) مقاوم می‌باشد. همچنین، عصاره اتانولی گیاه علف مار اثر مهارکنندگی قابل توجهی در برابر *سالمونلا تیفی‌موریوم* از خود نشان داده است. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که امکان استفاده از عصاره اتانولی گیاه علف مار به عنوان جایگزین مناسب آنتی‌بیوتیک‌های متداول وجود دارد.

واژگان کلیدی: *حساسیت به آنتی‌بیوتیک، طیور، علف مار، فعالیت ضد میکروبی، گیاهان دارویی*

* پست الکترونیک نویسنده مسئول مکاتبه: Alimaghsoudi@uoz.ac.ir

مقدمه

در سال‌های اخیر مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها یکی از مهم‌ترین چالش‌های پیش روی انسان بوده است. مصرف بی‌رویه آنتی‌بیوتیک‌ها برای مقاصد غیر درمانی در تغذیه دام، طیور و آبزیان، تجویز خودسرانه آنها بدون توجه به نظر پزشک و شیوع باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌ها، مشکلاتی را برای سلامت انسان به‌وجود آورده است که در مجموع به آن مقاومت به آنتی‌بیوتیک (Antibiotic resistance) گفته می‌شود (۱،۲).

به دلیل این که هنوز ابزاری برای به کارآمدی آنتی‌بیوتیک‌ها در درمان بیماری‌های عفونی یافت نشده است و از طرفی ژنوم باکتری‌های بیماری‌زا هر روز در حال تکامل و مقاوم شدن نسبت به درمان با آنتی‌بیوتیک‌ها هستند، مشکلات پیش روی بشر در مبارزه با عفونت‌ها جدی‌تر شده است. به همین دلیل مطالعات متعددی برای مقابله با بیماری‌های عفونی و همچنین یافتن جایگزین مناسب برای آنتی‌بیوتیک‌ها انجام شده است.

یکی از مصارف غیر مجاز آنتی‌بیوتیک‌ها، استفاده از آنها به عنوان مکمل و افزودنی در تغذیه دام، طیور و آبزیان است که به دلیل از بین بردن باکتری‌های مضر دستگاه گوارش، موجب بهبود رشد حیوانات می‌گردد. به همین دلیل در گذشته به آنتی‌بیوتیک‌ها محرک رشد گفته می‌شد. با توجه به این که مصرف آنتی‌بیوتیک همگام با افزایش مصرف خوراک، به‌ویژه در انتهای دوره پرورش حیوانات گوشتی یا همزمان با اوج تولید در مرغ‌های تخم‌گذار و گاوهای شیری افزایش می‌یابد، مقادیری از آنتی‌بیوتیک مصرف شده از طریق خوراک در محصولات دامی مانند شیر (۳)، گوشت (۴) و تخم‌مرغ (۵)، باقی مانده و موجب مشکلاتی برای سلامتی مصرف‌کنندگان این محصولات آلوده می‌شود. از طرفی، آلودگی حیوانات پرورشی با آنتی‌بیوتیک‌ها موجب شیوع باکتری‌های مضر در محیط زیست نیز می‌شود که در نهایت منجر به آلودگی انسان و حیواناتی می‌گردد که حتی در تماس با آنتی‌بیوتیک‌ها هم نبوده‌اند (۶). راهکارهای متعددی برای یافتن جایگزین مناسب آنتی‌بیوتیک‌ها در تغذیه دام و طیور ارائه شده است. یکی از راهکارها، استفاده از پروبیوتیک‌ها و پری‌بیوتیک‌ها برای کاهش جمعیت میکروبی مضر دستگاه گوارش می‌باشد (۸، ۷). یکی دیگر از راهکارها، یافتن جایگزین آنتی‌بیوتیک‌هاست که خواص ضد میکروبی قوی داشته باشند. بسیاری از عصاره‌های گیاهی و ترکیبات موجود در آن دارای اثرات ضد باکتریایی می‌باشند. برخی مطالعات خواص ضد باکتریایی علف مار را گزارش نموده‌اند (۹).

گیاه علف مار (*Capparis spinosa*) از راسته میخک‌سانان (Caryophyllales) و تیره Capparidaceae است. این تیره شامل گیاهان علفی یک ساله، پایا یا به صورت درختچه و غالباً با پوشش غده‌ای هستند. در مناطق مختلف کشور ایران و در گویش‌های مختلف اسامی دیگر این گیاه کَبَر یا کِیپِر (معادل انگلیسی آن Caper یا Capparis)، شپله (شفه‌له)، کلکام، لگجی، لیجین و خاروک می‌باشد. هرچند نخستین زیستگاه علف مار به درستی مشخص نیست، اما امروزه دامنه رویش این گیاه در شرایط جغرافیایی متنوعی از اقلیم مدیترانه‌ای و گرمسیر تا بلندی‌های هیمالیا گسترش یافته است. در ایران نیز علف مار در نیمه جنوبی کشور در اغلب مناطق یافت می‌شود.

برخی گونه‌های جنس *Capparis* در طب سنتی مورد استفاده قرار گرفته است. از گلبرگ این گیاه به عنوان چاشنی استفاده می‌شود و میوه آن در فرهنگ‌های مختلف مصارف غذایی و دارویی متعددی دارد که از جمله مهم‌ترین مصارف آن در تهیه ترشی است. البته ممکن است محصولات این

گیاه در برخی افراد ایجاد حساسیت نمایند (۱۰). از سایر بخش‌های این گیاه در تولید دارو و مواد آرایشی استفاده می‌شود. در طی چهار دهه گذشته، گیاه علف مار به دلیل اهمیت اقتصادی آن به عنوان یک گیاه زراعی در برخی از کشورهای اروپایی مانند یونان و ایتالیا مورد توجه قرار گرفته است. گیاه علف مار خواص آنتی‌اکسیدانی قوی نیز دارد (۱۱). همچنین، از میوه و برگ گیاه علف مار در درمان دیابت، عفونت قارچی، عفونت دستگاه گوارش و بیماری‌های پوستی ناشی از انگل‌ها به صورت خوراکی یا ضماد استفاده می‌شود. گاهی از این گیاه برای درمان خشکی و التهاب پوست و به منظور افزایش جریان خون زیر پوست به عنوان ضماد استفاده می‌شود (۱۲).

با توجه به مقاوم شدن برخی سویه‌های باکتریایی به درمان‌های آنتی‌بیوتیکی، به‌خصوص در طیور پرورشی و از طرفی وجود قابلیت‌های نهفته در گیاهان دارویی بومی ایران برای جایگزینی با برخی آنتی‌بیوتیک‌ها، هدف از این مطالعه، بررسی اثرات ضد میکروبی عصاره اتانولی گیاه علف مار برروی *سالمونلا تیفی‌موریوم* جدا شده از طیور در شرایط آزمایشگاهی است.

مواد و روش‌ها

تهیه عصاره اتانولی: برگ گیاه علف مار، از شهرستان زابل جمع‌آوری شده و در سایه و دمای اتاق خشک گردید. برای تهیه عصاره اتانولی، مقدار ۱۰ گرم پودر خشک برگ گیاه در داخل ظروف شیشه‌ای با حجم ۵۰۰ میلی‌لیتر حاوی ۱۰۰ میلی‌لیتر اتانول ۹۶ درصد قرار داده شد. محتوی ظروف به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق توسط دستگاه شیکر (Pars Azma- ایران) با سرعت rpm ۱۳۰ مخلوط شده، سپس به وسیله کاغذ واتمن شماره ۲ صاف گردید. جداسازی حلال از عصاره توسط دستگاه روتاری (Heidolph- آلمان) و با کمک پمپ خلاء (تقطیر در خلاء) انجام گرفت. پس از این مرحله عصاره به مدت ۴۸ ساعت در آون (Memmert-آلمان) تا جداسازی بقایای حلال و رسیدن به وزن ثابت قرار داده شد. عصاره به‌دست آمده وزن شده سپس در حلال (DSMO) ۱۰ درصد حل شد. عصاره به‌دست آمده تا زمان استفاده در آزمایشات ضد میکروبی در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در یخچال نگهداری شد (۲۱، ۱۲).

تهیه و جداسازی نمونه‌های باکتری: نمونه‌های مدفوع طیور در سال ۱۳۹۳ از شهرستان زابل واقع در منطقه سیستان در شرق ایران جمع‌آوری شدند. نمونه‌ها ابتدا به مدت ۶ ساعت در محیط نگه‌داری گردیدند. سپس به محیط کشت‌های انتخابی سالمونلا شیگلا آگار و سیمون سولفیت آگار انتقال یافته و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند. در نهایت با کمک آزمون‌های بیوشیمیایی و محیط‌های کشت افتراقی TSI، MRVP، لیزین آیرون آگار، سیمون سیترات و اوره، ۱۲ سویه باکتری سالمونلا تیفی‌موریوم از نمونه‌های مدفوع طیور منطقه زابل جداسازی گردید (۲۱، ۱۵).

تهیه سوسپانسیون ۰/۵ مک فارلند: برای تهیه یک سوسپانسیون میکروبی همگن، ابتدا ۲۴ ساعت قبل از انجام آزمایش، از کشت ذخیره باکتری به محیط کشت شیب‌دار آگار مغذی تلقیح شد. پس از رشد کلونی‌های باکتری، سطح محیط کشت با محلول نرمال سالین شسته شده و سوسپانسیون غلیظ میکروبی حاصل گردید. سپس مقداری از سوسپانسیون باکتری، داخل لوله استریل دربدار حاوی محلول نرمال سالین ریخته شده و کدورت آن با دستگاه اسپکتروفتومتر (Unico- آمریکا) در طول موج ۶۳۰ نانومتر اندازه‌گیری شد و تا هنگام برابر شدن کدورت محلول با کدورت ۰/۵ مک فارلند، با

محلول نرمال سالین رقیق گردید. بدین ترتیب سوسپانسیون باکتری با غلظت $10^8 \times 1$ cfu/ml تهیه گردید.

تعیین حساسیت باکتری به آنتی‌بیوتیک:

حساسیت سویه‌های باکتری نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های آمپی‌سیلین (µg10)، تتراسایکلین (µg30)، آمیکاسین (µg30) و پنی‌سیلین (µg15) (پادتن طب، ایران) با استفاده از روش استاندارد دیسک دیفیوژن کربی- بائر مورد ارزیابی قرار گرفت. بدین منظور، در ابتدا از تمام سویه‌های باکتری، غلظت ۰/۵ مک فارلند در محیط مایع آبگوشتی مولر هینتون تهیه و سپس بر روی محیط آگار مولر هینتون پخش و کشت داده شدند. دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی در فاصله مناسبی از یکدیگر قرار گرفتند و پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در انکوباتور قرار داده شده و هاله‌های بازدارنده جهت ارزیابی و تعیین مقاومت و حساسیت سویه‌ها به آنتی‌بیوتیک‌های مورد نظر، تعیین شد.

تعیین میزان حساسیت ۱۲ سویه سالمونلا تیفی‌موریوم نسبت به عصاره اتانولی علف مار:

حساسیت سویه‌های باکتری دارای مقاومت چندگانه آنتی‌بیوتیکی نسبت به عصاره علف مار با استفاده از روش رقت‌سازی در چاهک بررسی شد. در این روش ابتدا به چاهک‌های پلیت‌های میکروتیتر میزان ۱۰۰ میکرولیتر از محیط مایع مغذی مولر هینتون (MHB) اضافه شد. سپس به چاهک اول ۱۰۰ میلی‌لیتر از محلول عصاره اضافه شده و پس از مخلوط کردن ۱۰۰ میکرولیتر از چاهک اول برداشته به چاهک دوم اضافه شد و بدین ترتیب تا آخرین چاهک این کار انجام شد. در نهایت از چاهک آخر ۱۰۰ میکرولیتر از مخلوط محیط کشت و عصاره بیرون ریخته شد. به تمامی چاهک‌ها مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون میکروبی حاوی cfu/ml 10^8 واحد در میلی‌لیتر معادل ۰/۵ مک فارلند اضافه شده و در انکوباتور در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفت. اولین چاهکی که از رشد باکتری پس از قرار دادن در انکوباتور جلوگیری کرده بود به عنوان (MIC) در نظر گرفته شد و برای اطمینان از چاهک‌های شفاف ۱۰ میکرولیتر برداشته به محیط مولر هینتون آگار منتقل کرده و پس از ۲۴ ساعت اولین رقتی که توانسته ۹۹/۹ درصد باکتری را از بین ببرد به عنوان حداقل غلظت کشنده (MBC) نشان داده شد (۹، ۱۵).

نتایج

در مطالعه حاضر، فعالیت ضد باکتریایی آنتی‌بیوتیک‌های پنی‌سیلین، آمپی‌سیلین، تتراسایکلین و آمیکاسین علیه سویه‌های به‌دست آمده *سالمونلا تیفی‌موریوم* در شرایط آزمایشگاهی مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج این آزمون نشان داد که در شرایط آزمایشگاهی سویه‌های *سالمونلا تیفی‌موریوم* در مجاورت اغلب آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده، رفتار تقریباً مشابهی از خود نشان می‌دهند، اما با این وجود، تفاوت‌هایی در بین سویه‌ها در بروز عملکرد مقاومت یا حساسیت به آنتی‌بیوتیک‌ها دیده شد. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که سویه‌های *سالمونلا تیفی‌موریوم* به ترتیب نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های پنی‌سیلین (۱۰۰درصد)، آمپی‌سیلین (۱۰۰درصد)، تتراسیکلین (۱۶/۶درصد) و آمیکاسین (۸/۳ درصد) مقاوم بودند (جدول ۱). در جدول ۲ حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) عصاره اتانولی میوه علف مار در برابر *سالمونلا تیفی‌موریوم* نشان داده شده است.

جدول ۱- درصد حساسیت سویه‌های باکتری *سالمونلا تیفی‌موریوم* مورد بررسی نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها

	پنی سیلین (P)	آمپی سیلین (MA)	تتراسیکلین (TE)	آمیکاسین (AN)
مقاوم	۱۰۰	۱۰۰	۱۶/۶	۸/۳
حساس	۰	۰	۴۱/۷	۵۸/۳
نیمه حساس	۰	۰	۴۱/۷	۳۳/۳

جدول ۲- حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) عصاره اتانولی میوه علف مار در برابر سالمونلا تیفی‌موریوم

سویه باکتری	MBC (µg/ml)	MIC (µg/ml)
۱	۲۰	۱۰
۲	۲۰	۱۰
۳	۵	۲/۵
۴	۱۰	۵
۵	۲۰	۱۰
۶	۵	۲/۵
۷	۵	۲/۵
۸	۱۰	۵
۹	۱۰	۵
۱۰	۵	۵
۱۱	۱۰	۱۰
۱۲	۱۰	۵

بحث و نتیجه گیری

به طور کلی مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها برای سه منظور درمان، پیشگیری و به عنوان محرک رشد می‌باشد. از جمله مهم‌ترین نگرانی‌های پیش روی بشر در قرن آتی مقاوم‌شدن باکتری‌های بیماری‌زا نسبت به درمان با آنتی‌بیوتیک است (۱۳). این مشکلات به‌ویژه در کشورهای در حال توسعه که نظارت دقیقی بر مصرف آنتی‌بیوتیک در حوزه دام و طیور به عنوان مکمل غذایی ندارند بیشتر مورد توجه می‌باشد. نتایج حاصل از این مطالعه نیز درجات مختلفی از مقاومت سویه‌های *سالمونلا تیفی‌موریوم* به آنتی‌بیوتیک‌های پنی‌سیلین، آمپی‌سیلین، تتراسیکلین و آمیکاسین (۸/۳۳ تا ۱۰۰ درصد) را نشان داد. نتایج مشابهی از سطوح مختلف مقاومت باکتری‌های مختلف از جمله *سالمونلا* نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها در مطالعات مختلف گزارش شده است. در آمریکای مرکزی، در طی یک مطالعه برروی ۳۹۲ سویه *سالمونلا* جدا شده در طی سال‌های ۲۰۰۲ تا ۲۰۰۵ در کشور مکزیک، نشان داده شد که ۲۵/۵ درصد سویه‌ها به آمپی‌سیلین، ۲۳/۴ درصد به کلرامفنیکل، ۱۹/۲ درصد به کوتریموکسازول و ۴۸/۸ درصد به تتراسیکلین مقاوم بودند (۱۴). در مطالعه دیگری که بر روی نمونه‌های *سالمونلای* به دست آمده از دستگاه گوارش جوجه‌های یک‌روزه طی سال‌های ۲۰۰۸ تا ۲۰۱۰ در استان مازندران ایران انجام شد، مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های کلرامفنیکل، کوفتاکسیم و سولتریم مشاهده نشد، ولی سویه‌های مختلف *سالمونلا* نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های کلیستین (۲۱/۶۶ درصد)، انروفلوکساسین (۶/۶۶ درصد)، نئومایسین (۳۳/۳۳ درصد) و فلومکوئین (۱۱/۶۶ درصد) مقاوم بودند (۱۵).

محصولات غذایی حاصل از پرندگان اهلی (گوشت و تخم‌مرغ) در زنجیره غذایی انسان قرار دارند و آلودگی این محصولات با پاتوژن‌هایی از قبیل *سالمونلا* و *کامپیلوباکتر* می‌تواند سلامت مصرف‌کنندگان را تهدید نماید. هرچند *سالمونلا تیفی‌موریوم* به‌طور عمده در دستگاه گوارش طیور

مشاهده می‌شود، اما مواردی از آلودگی حیوانات وحشی، گاوهای شیری و خوک نیز با این باکتری مشاهده شده است (۱۶). حتی به نظر می‌رسد برخی گیاهان نیز میزبان *سالمونلا* باشند (۱۷). این موضوع نشان از شیوع بیش از پیش باکتری *سالمونلا* و ضرورت یافتن روش‌های کنترل‌کننده این باکتری بیماری‌زا در مقیاس وسیع برای جایگزینی با آنتی‌بیوتیک‌ها را دارد.

قدمت استفاده از گیاهان برای اهداف دارویی به دوران باستان برمی‌گردد (۱۸، ۱۹). تحقیقات اخیر به دنبال محصولات گیاهی جدید به عنوان جایگزینی داروها برای درمان بیماری‌ها است (۲۰) و مطالعات متعددی برای معرفی گیاهان مناسب به عنوان باکتری‌کش به انجام رسیده است. در یک مطالعه، تأثیر باکتری‌کشی عصاره‌های مختلف پوست، هسته، آب میوه و گل میوه انار بر *سالمونلای* جدا شده از گوشت مرغ مورد بررسی قرار گرفت (۲۱). در این مطالعه بیشترین خاصیت ضد باکتریایی مربوط به عصاره اتانولی پوست انار بود که مقدار MIC آن در دامنه ۱۰/۷۵ تا ۱۲/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر گزارش شد. خواص ضد باکتریایی عصاره پوست انار به وجود ترکیبات فنلی نسبت داده می‌شود. برخی از این مواد در پوست انار شامل آنتوسیانین‌ها، الاجیتانین‌ها، اسید الاجیک و فلاوانول می‌باشد. در مطالعه دیگری اثرات توأم ضد میکروبی اسانس زیره و آنتی‌بیوتیک نایسین بر روی *سالمونلا تیفی‌موریوم* و *استافیلوکوکوس اورئوس* بررسی شده است (۲۲). در پژوهش مزبور رشد هر دو باکتری بیماری‌زا در مجاورت توام ۳۰ میکرولیتر در ۱۰۰ میلی‌لیتر اسانس و ۰/۵ میکرولیتر در میلی‌لیتر آنتی‌بیوتیک در دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد کاهش داشت. با افزایش دما به ۲۵ درجه سانتی‌گراد، اثرات باکتری‌کشی اسانس و آنتی‌بیوتیک بیشتر شد. نتایج این مطالعه نشان داد تأثیر توأم آنتی‌بیوتیک و ترکیبات فنلی موجود در اسانس زیره در دمای مناسب بر غشای پلاسمایی باکتری اثر تخریبی داشته و باعث کاهش جمعیت میکروبی می‌شود. گزارش شده است که برخی از پلی‌ساکاریدهای موجود در برگ گیاه علف مار خواص آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌باکتریالی دارند (۲۳)، به طوری که، آثار ضد باکتریایی پلی‌ساکاریدهای برگ این گیاه بر باکتری‌های گرم منفی (*اشرشیا کلای*، *شیگلا* و *سالمونلا*) مؤثرتر از باکتری‌های گرم مثبت (*باسیلوس پانیس* و *استافیلوکوکوس اورئوس*) بود. به همین دلیل از این ترکیب می‌توان در بسته‌بندی مواد غذایی استفاده نمود. همچنین خواص ضد میکروبی ریشه گیاه علف مار نیز بررسی شده است (۲۴)، که به وفور در طب سنتی جنوب کشور ایتالیا مورد استفاده قرار می‌گیرد. خواص ضد باکتریایی ریشه علف مار به ترکیبات هتروسیکلیک آن منسوب شده است.

نتایج بررسی حاضر نشان داد که *سالمونلای* موجود در دستگاه گوارش پرندگان بومی منطقه سیستان درجات متفاوتی از مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها را نشان می‌دهند و نتایج این بررسی پیشنهاد می‌کند که عصاره گیاه علف مار بومی منطقه سیستان می‌تواند به تنهایی یا همراه با سایر ترکیبات ضد میکروبی از جمله آنتی‌بیوتیک‌ها، برای درمان مسمومیت و کنترل سویه‌های *سالمونلا تیفی‌موریوم* مقاوم به آنتی‌بیوتیک شناسایی شده در مطالعه حاضر مفید باشد. برای تأیید نتایج این آزمایش بر روی سالمونلا پیشنهاد می‌شود عصاره گیاه علف مار بر روی باکتری استاندارد نیز مورد بررسی قرار گیرد. علاوه بر ۱۲ سویه شناسایی شده ممکن است سویه‌های دیگری از این باکتری نیز وجود داشته باشد. به همین دلیل استفاده از روش‌های تفریقی مختلف برای شناسایی انواع سالمونلا در منطقه سیستان و سایر مناطق کشور

پیشنهاد می‌شود. همچنین آزمایش بر روی موجود زنده (*in vivo*) برای ارزیابی سمیت احتمالی عصاره، بررسی سایر خواص و اثر آن و به دست آوردن غلظت‌های مناسب برای تجویز بالینی در موجودات زنده لازم است.

References

1- Bartlett JG, Froggatt JW. Antibiotic resistance. Arch Otolaryngol Head Neck Surg. 1995; 121(4):392-6.

2- Cellai Rustici M, Mangiantini F, Chiappini E, Bartolome R, Pecile P, Prats G. Antibiotic resistance among *Salmonella enterica* isolates in Southern European children hospitalized for acute diarrhea. Eur J Pediatr. 2006; 165(8):577-8.

3- Ouderkirk LA. Evaluation of two microbiological methods for detecting residual antibiotics in milk. J Assoc off Anal Chem.1976; 59(5):1122-24.

4- Kjeldgaard J, Cohn MT, Casey PG, Hill C, Ingmer H. Residual antibiotics disrupt meat fermentation and increase risk of infection. MBio. 2012; 3(5):1-4.

5- Ezhov VI. Residual amounts of antibiotics in the eggs of laying hens. Veterin. 1970; 46(4):81-3.

6- Haznedaroglu BZ, Yates MV, Maduro MF, Walker SL. Effects of residual antibiotics in groundwater on *Salmonella typhimurium*: changes in antibiotic resistance, *in vivo* and *in vitro* pathogenicity. J Environ Monit. 2012; 14(1):41-7.

7- Islam MM, Yang CJ. Efficacy of mealworm and super mealworm larvae probiotics as an alternative to antibiotics challenged orally with *Salmonella* and *E. coli* infection in broiler chicks. Poult Sci. 2017; 96(1):27-34.

8- Hume ME. Historic perspective: prebiotics, probiotics, and other alternatives to antibiotics. Poult Sci. 2011; 90(11):2663-9.

9- Vahid H, Rakhshandeh H, Ghorbani A. Antidiabetic properties of *Capparis spinosa* L. and its components. Biomed Pharmacother. 2017; 92:293-302.

10- Alcantara M, Morales M, Carnes J. Food allergy to caper (*Capparis spinosa*). J Investig Allergol Clin Immunol. 2013; 23(1):67-9.

11- Yang T, Wang C, Liu H, Chou G, Cheng X, Wang Z. A new antioxidant compound from *Capparis spinosa*. Pharmaceutical biol. 2010; 48(5):589-94.

12- Zhou H, Jian R, Kang J, Huang X, Li Y, Zhuang C. Anti-inflammatory effects of caper (*Capparis spinosa* L.) fruit aqueous extract and the isolation of main phytochemicals. J Agric Food Chem. 2010; 58(24):12717-21.

13- Coates AR, Hu Y. Novel approaches to developing new antibiotics for bacterial infections. British J Pharmacol. 2007; 152(8):1147-54.

14- Zaidi MB, Calva JJ, Estrada-Garcia MT, Leon V, Vazquez G, Figueroa G. Integrated food chain surveillance system for *Salmonella* spp. in Mexico. Emerg Infect Dis. 2008; 14(3):429-35.

15- Ranjbar Malidareh N, Firouzi S, Ranjbar Malidareh N, Habibi H. *In vitro* and *in vivo* susceptibility of *Salmonella* spp. isolated from broiler chickens. Comp Clinic Path. 2012; 22:1065-8.

16- Skov MN, Madsen JJ, Rahbek C, Lodal J, Jespersen JB, Jorgensen JC. Transmission of *Salmonella* between wildlife and meat-production animals in Denmark. J Appl Microbiol. 2008; 105(5):1558-68.

17- Schikora A, Garcia AV, Hirt H. Plants as alternative hosts for *Salmonella*. Trends Plant Sci. 2012; 17(5):245-9.

18- Khan H. Medicinal Plants in Light of History: Recognized Therapeutic Modality. Evid Based Complement Alternat Med. 2014; 19(3):216-9.

19- Lipp FJ. The efficacy, history, and politics of medicinal plants. Altern Ther Health Med. 1996; 2(4):36-41.

20- Nabavi SM, Marchese A, Izadi M, Curti V, Daglia M, Nabavi SF. Plants belonging to the genus Thymus as antibacterial agents: from farm to pharmacy. Food Chem. 2015; 173:339-47.

21- Wafa BA, Makni M, Ammar S, Khannous L, Hassana AB, Bouaziz M. Antimicrobial effect of the Tunisian Nana variety *Punica granatum* L. extracts against *Salmonella enterica* (serovars Kentucky and Enteritidis) isolated from chicken meat and phenolic composition of its peel extract. International Journal of Food Microbiol. 2017; 241:123-31.

22- Tavakoli HR, Mashak Z, Moradi B, Sodagari HR. Antimicrobial activities of the combined use of *Cuminum Cyminum* L. Essential Oil, Nisin and Storage Temperature Against *Salmonella typhimurium* and *Staphylococcus aureus in vitro*. Jundi J of Microbiol. 2015; 8(4):e24838.

23- Mazarei F, Jooyandeh H, Noshad M, Hojjati M. Polysaccharide of caper (*Capparis spinosa* L.) Leaf: Extraction optimization, antioxidant potential and antimicrobial activity. Int J Biol Macromol. 2017; 95:224-31.

24- Boga C, Forlani L, Calienni R, Hindley T, Hochkoeppler A, Tozzi S. On the antibacterial activity of roots of *Capparis spinosa* L. Nat Prod Res. 2011; 25(4):417-21.

Study of antimicrobial effects of ethanol extract of caper plant from Sistan on antibiotic resistant *Salmonella typhimurium*

Ali Maghsoudi*[1,2,3], Saeideh Saeidi[3]

1 - Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Zabol, Zabol.
2 - Department of Bioinformatics, University of Zabol, Zabol.
3 - Center of Agricultural Biotechnology, University of Zabol, Zabol.

Receive: December 2, 2017; Revise: January 8, 2018; Accept: March 4, 2018

Summary

Nowadays, antibacterial effects of medicinal plants are considered as an appropriate alternative of antibiotics. Therefore, the aim of the current study was *in vitro* determination of antimicrobial effects of caper (*Capparis spinosa*) against *Salmonella typhmurium* isolated from poultry. Ethanol extract of caper leaves was extracted using vacuum from the center (rotary) apparatus. Moreover, a total number of 12 *S. typhmurium* strains were isolated from poultry in Zabol. Minimum inhibitory concentration and minimum bactericidal concentration of different concentrations of plant extract were determined on bacteria using dilution in well method. Sensitivity of bacteria strains to antibiotics were evaluated using Kirby-Bauer disk diffusion standard test. Results of the current study showed that different strains of bacteria are resistant to Penicillin (100 %), Ampicillin (100 %), Tetracycline (16.6 %) and Amikacin (8.3 %). Furthermore, ethanol extracts of caper plant showed significant inhibitory effect on *S. typhimurium*. Results of the current study indicated that there is possibly of using ethanol extract of caper plant as a useful alternative beside usual antibiotics.

Keywords: *Antimicrobial activity, medicinal plants, Antibiotic sensitivity, poultry, Caper*