

مقایسه اثر ضد باکتریایی عصاره گیاه کرفس کوهی (*Kelussia odoratissima*) با آنتی بیوتیک‌های رایج مصرفی در پرورش ماهی قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

اسماعیل پیر علی خیر آبادی^{۱*}، زهرا سلطانی نژاد^۱، امین نعمت الهی^۲، فرزانه نیکو خواه^۱

۱- گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران، صندوق پستی: ۱۱۵

۲- گروه بهداشت و بیماری‌ها، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران، صندوق پستی: ۱۱۵

تاریخ دریافت: ۱۱ بهمن ۱۳۹۶ تاریخ پذیرش: ۱۸ خرداد ۱۳۹۷

چکیده

گیاهان به دلیل عوارض جانبی کمتر می‌توانند به‌عنوان یک جانشین مناسب داروهای شیمیایی از جمله آنتی‌بیوتیک‌ها در نظر گرفته شوند باشند. گیاه کرفس کوهی یکی از گیاهان تغذیه‌ای، مرتعی و بومی ایران همراه با اثرات ضد باکتریایی است. مطالعه حاضر باهدف مقایسه اثر ضد باکتریایی عصاره اتانولی گیاه کرفس کوهی با آنتی‌بیوتیک‌های اریترومايسين و آنروفلوکساسین علیه ۴ جدایه/سترپتوکوکوس/ینیایی جداسازی شده از ماهی قزل‌آلای رنگین کمان انجام شد. بدین منظور ابتدا تیمارها با سه تکرار در غلظت‌های مختلف ۱۰۰، ۵۰، ۲۵، ۱۲/۵ و ۶/۲۵ میکروگرم بر میکرو لیتر عصاره طراحی گردید. سپس برای تعیین قدرت ضد باکتریایی عصاره‌ها از روش چاهک گذاری (Well Diffusion) استفاده گردید و با قرار دادن دیسک‌های آنتی‌بیوتیک اریترومايسين و آنروفلوکساسین در محیط کشت مولر هیتون حاوی باکتری قطر هاله عدم رشد باکتری اندازه‌گیری شد. اطلاعات جمع‌آوری شده با استفاده از آزمون‌های آنالیز واریانس یک‌طرفه و در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ $P \leq$ مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. نتایج مطالعه نشان داد که عصاره اتانولی کرفس کوهی در غلظت‌های ۶/۲۵ و ۱۲/۵ میکروگرم بر میکرو لیتر هیچ اثری بر باکتری‌های مورد مطالعه نداشت. همچنین در باکتری‌های ۳ و ۴ علاوه بر غلظت‌های ۶/۲۵ و ۱۲/۵ در غلظت‌های ۲۵ میکروگرم بر میکرو لیتر عصاره کرفس نیز هاله عدم رشد مشاهده نشد. بیشترین قطر هاله عدم رشد به ترتیب در باکتری‌های ۱، ۲، ۴، ۳ با میانگین قطر هاله عدم رشد، ۱۹/۳۳، ۱۹/۳۳، ۱۸/۶۷ و ۱۵/۳۳ میلی‌متر اندازه‌گیری شد که اختلاف معناداری رابین غلظت‌های مختلف نشان داد ($P < 0/05$).

کلمات کلیدی: آنتی‌بیوتیک، قزل‌آلای رنگین کمان، استرپتوکوکوزیس، کرفس کوهی.

مقدمه

توسعه روزافزون تکثیر و پرورش ماهی قزل آلا، رنگین کمان باعث افزایش بروز بیماری‌های مختلف، از جمله بیماری‌های باکتریایی شده است. در این بین آلودگی به استرپتوکوکوزیس در سطح وسیعی از جهان گزارش شده است و بیماری استرپتوکوکوزیس ناشی از استرپتوکوکوس/ینیایی سبب بروز خسارات اقتصادی فراوان به صنعت آبی پروری در سراسر جهان از جمله ایران گردیده است (Soltani et al., 2005؛ Soltani et al., 2008). به طوری که تاکنون استرپتوکوکوزیس در ۲۷ گونه ماهیان آب شیرین، آب شور و لب شور گزارش شده و نیز به عنوان پاتوژن زئونوز سبب بروز عفونت استرپتوکوکی در انسان می‌شود (Agnew and Barnes, 2007). مصرف بی‌رویه آنتی‌بیوتیک‌ها برای درمان بیماری منجر به بروز مقاومت آنتی‌بیوتیکی در جدایه‌های باکتریایی و کاهش اثرگذاری داروها، تجمع آنتی‌بیوتیک در عضلات ماهی و در نتیجه به مخاطره انداختن سلامت مصرف کنندگان ماهی شده است، لذا یافتن راه‌های پیشگیری برای به حداقل رساندن خسارات اقتصادی ناشی از تلفات در مزارع پرورش ماهی و نیز کاهش مشکلات زیست محیطی ناشی از مصرف گسترده آنتی‌بیوتیک‌ها ضروری به نظر می‌رسد (Shahrani et al., 2014). از یک دهه قبل تاکنون استفاده از دارو-های گیاهی به عنوان داروهای دوستدار محیط زیست برای مقابله با باکتری‌های بیماری‌زا مورد توجه قرار گرفته است (Abutbul et al., 2000). کرفس کوهی (*Kelussia odoratissima*) با نام محلی کلوس به عنوان گونه‌ای جدید از جنس کلوسیا^۱ از تیره

چتریان^۲، یکی از گیاهان تغذیه‌ای، مرتعی و بومی ایران بوده و تاکنون وجود آن در سایر مناطق جهان گزارش نشده است. کرفس کوهی در منابع مختلف گذشته با نام‌های علمی *Amircabiria odoratissima*, *Apium graveolens*, *Opopanax* نام گذاری گردیده است. در طب سنتی برای اندام‌های هوایی گیاه کرفس کوهی خواصی همچون ضد التهاب، ضد درد، درمان روماتیسم، تصفیه خون و برای بذر و ریشه آن به صورت جوشانده خواصی برای درمان سرماخوردگی و سرفه‌های شدید قائل هستند. همچنین اثرات ضد حساسیت، محافظت کننده عروق، ضد انعقادی و محافظ دستگاه گوارش، ضد دیابت، آنتی پراکسیداسیون لیپیدها و ضد سرطان آن نیز مشخص شده است (Heidari Sureshjani et al., 2014). اثرات ضد باکتریایی اسانس و عصاره ۱۰ گونه گیاهی منحصربه‌فرد ایرانی از جمله کرفس کوهی را بر روی باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس^۳، سودوموناس آئروژینوزا^۴، کلبسیلا پنومونیه^۵، اشرشیا کلای^۶ مورد بررسی قرار دادند. نتایج آن‌ها حاکی از آن بود که اکثر اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهان مورد مطالعه اثرات آنتی باکتریال بالایی با قطر بازداری ۸ تا ۲۳ میلی‌متر در مقابل باکتری‌های مورد آزمایش داشتند. مشرقی و همکاران (۱۳۹۳) با بررسی اثرات ضد باکتریایی اسانس کرفس کوهی و کلپوره علیه برخی پاتوژن‌های مواد غذایی، بیان کردند که از این گیاهان می‌توان در راستای کنترل مؤثر پاتوژن‌های مواد غذایی به عنوان

^۲ Apiaceae

^۳ *Staphylococcus aureus*

^۴ *Pseudomonas aeruginosa*

^۵ *Klebsiella pneumonia*

^۶ *Escherichia coli*

^۱ *Kelussia*

جهت اطمینان از استریل بودن عصاره از محیط کشت نوترینت آگار برای کشت و بررسی میکروبی عصاره استفاده شد. در نهایت نسبت به تهیه پنج غلظت ۱۰۰، ۵۰، ۲۵، ۱۲/۵ و ۶/۲۵ میکروگرم بر میکرو لیتر از عصاره به منظور مقایسه عملکرد اقدام گردید (قادری و همکاران، ۱۳۸۳).

۲. بررسی قدرت ضد باکتریایی عصاره‌های گیاهی به روش انتشار از چاهک

برای انجام مطالعات خواص ضد باکتریایی عصاره‌های گیاهی از ۴ جدایه باکتری استرپتوکوکوس اینیایی استفاده شد. برای این منظور از جدایه‌های لیوفیلیزه استرپتوکوکوس اینیایی که به روش مولکولی PCR از ماهیان مبتلا به بیماری استرپتوکوکوزیس که در مطالعات فلی سلطانی و همکاران (۲۰۰۵ و ۲۰۰۸) جداسازی و شناسایی شده بود استفاده گردید (جدایه های ۱، ۲، ۳ و ۴). به منظور بررسی اثرات ضد باکتریایی عصاره‌ی اتانولی کرفس کوهی از روش چاهک گذاری^۳ استفاده شد (Magaldi et al., 2004)، به این منظور از کلنی باکتری کشت شده در محیط کشت ژلوز خوندار برداشت و با محتوی لوله آزمایش استریل حاوی ۵ میلی لیتر سرم فیزیولوژی استریل کاملاً مخلوط شد تا سوسپانسیون یکنواختی از باکتری مورد نظر با کدورتی مشابه لوله استاندارد ۰/۵ مک فارلند به دست آید. سپس توسط سوآپ استریل از لوله حاوی سوسپانسیون باکتری، مقداری را برداشته روی پلیت حاوی محیط کشت مولر هینتون آگار (مرک، آلمان) کشت داده شد. سپس توسط پیت پاستور استریل چاهک‌هایی به قطر ۵ میلی متر بافاصله‌های مناسب ایجاد کرده و توسط

یک روش مکمل استفاده کرد. با توجه به اهمیت روزافزون گیاهان دارویی به عنوان جایگزین آنتی‌بیوتیک، وجود ترکیبات فعال زیستی موجود در گیاه کرفس کوهی همچون فتالیدها و فلاوونوئیدها (سعیدی و امید بیگی، ۱۳۸۸؛ سلیمی و همکاران، ۱۳۸۹؛ مشرقی و همکاران، ۱۳۹۳) و وجود این گیاه در استان چهارمحال بختیاری، مطالعه حاضر باهدف مقایسه اثرات ضد باکتریایی عصاره اتانولی کرفس کوهی روی باکتری استرپتوکوکوس اینیایی به عنوان یکی از عوامل پاتوژن مشترک بین انسان و حیوان با آنتی‌بیوتیک‌های رایج اریترومايسين و آنروفلوکساسين انجام شد.

مواد و روش‌ها

۱. تهیه و آماده‌سازی عصاره‌های گیاهی

گیاه کرفس کوهی در ابتدای دوره رویشی (اردیبهشت‌ماه سال ۹۴) از ارتفاعات شهرستان الیگودرز واقع در استان لرستان جمع‌آوری و برگ‌ها پس از تمیز شدن در شرایط مناسب در سایه خشک و توسط آسیاب آزمایشگاهی مدل^۱ وارنینگ پودر گردید. مقدار ۵۰ گرم از برگ‌های پودر شده گیاه جهت تهیه عصاره اتانولی به ارلن حاوی ۲۵۰ میلی لیتر اتانول ۹۶ درجه اضافه گردید و ارلن به مدت ۷۲ ساعت در داخل آون قرار داده شد تا استخراج عصاره به طور کامل انجام گیرد، سپس مخلوط حلال و گیاه توسط صافی از هم جدا شد، عصاره صاف شده توسط دستگاه تقطیر در خلأ^۲ تقطیر گردید. عصاره را در پلیت‌های استریل ریخته و سپس دهانه پلیت‌ها توسط پارافیلیم پوشیده شد.

^۱ Waring

^۲ Rotary evap-rator

^۳ Well Diffusion

رشد ناشی از آنروفلوکسازین بیشتر یا مساوی ۱۷ میلی متر و میزان هاله عدم رشد ناشی از اریترومايسين بیشتر یا مساوی ۲۳ میلی متر بود "حساس" اطلاق گردید (Wistreich, 1997).

به منظور تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم افزار آماری SPSS نسخه ۱۶ استفاده گردید. داده‌های حاصل از تأثیر ۵ سطح متفاوت غلظت عصاره‌های اتانولی بر باکتری‌های مورد بررسی با سه تکرار، با استفاده از تجزیه واریانس یک طرفه (one-way ANOVA) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. همچنین، برای انجام مقایسه زوج میانگین‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن (Duncan) در سطح معنی داری $P < 0.05$ استفاده شد.

نتایج

مطابق جدول ۱ عصاره اتانولی کرفس کوهی در غلظت‌های ۶/۲۵ و ۱۲/۵ میکرو گرم بر میکرو لیتر هیچ اثری بر باکتری‌های مورد مطالعه نداشت. همچنین در باکتری‌های ۳ و ۴ علاوه بر غلظت‌های ۶/۲۵ و ۱۲/۵ در غلظت‌های ۲۵ میکرو گرم بر میکرو لیتر عصاره کرفس نیز هاله عدم رشد مشاهده نشد. بیشترین قطر هاله عدم رشد به ترتیب در باکتری‌های ۱، ۲، ۴، ۳ با میانگین قطر هاله عدم رشد، ۱۹،۳۳، ۱۹،۳۳، ۱۸،۶۷ و ۱۵،۳۳ میلی متر اندازه گیری شد که اختلاف معناداری بین غلظت‌های مختلف ثبت گردید ($P < 0.05$). طبق نتایج جدول ۲ میانگین قطر هاله عدم رشد باکتری‌های ۲ و ۳ و ۴ در حضور آنروفلوکسازین به ترتیب ۷/۶۷ و ۹/۳۳ میلی متر بوده و این سه جدایه به آنروفلوکسازین مقاوم بودند. علاوه بر این جدایه ۱ با میانگین ۱۳،۳۳ میلی متر نسبت به آنروفلوکسازین نیمه حساس بود. در ارتباط با آنتی بیوتیک اریترومايسين میانگین قطر هاله

سمپلر مقدار ۵۰ میکرو لیتر از هر غلظت مشخص (۱۰۰، ۵۰، ۲۵، ۱۲،۵/۶ میکرو گرم بر میکرو لیتر) برداشته و در شرایط استاندارد تلقیح صورت گردید؛ سپس فرصت داده شد تا عصاره کاملاً جذب شود. در نهایت پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در گرمخانه ۲۵ درجه سانتی گراد قرار داده شد و هاله عدم رشد اطراف توسط خط کش فلزی با دقت ۱ میلی متر اندازه گیری شد. در این مطالعه از دیسک اریترومايسين (۱۵ میکرو گرم) برای کنترل مثبت و ۵۰ میکرو لیتر دی متیل سولفو کساید^۱ ۴٪ به عنوان کنترل منفی استفاده شد.

۳. آزمایش آنتی بیوگرام

به منظور ارزیابی میزان حساسیت باکتری استرپتوکوکوس اینیایی، از آنتی بیوتیک‌های اریترومايسين (۱۵ میکرو گرم) و آنروفلوکسازین (۱۰ میکرو گرم) استفاده شد. آزمایش آنتی بیوگرام به روش دیسک و در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد انجام گرفت و نتایج حاصله (اندازه گیری قطر ممانعت کنندگی) پس از ۲۴ ساعت از کشت قرائت شد (Soltani et al., 2015; Bonev et al., 2008). آنتی بیوگرام با دیسک‌ها برای هر آنتی بیوتیک ۳ مرتبه تکرار شد. در این مطالعه به مواردی که میزان هاله عدم رشد ناشی از آنروفلوکسازین کمتر یا مساوی ۱۲ میلی متر و میزان هاله عدم رشد ناشی از اریترومايسين کمتر یا مساوی ۱۳ میلی متر بود، "مقاوم" و به مواردی که میزان هاله عدم رشد ناشی از آنروفلوکسازین ۱۳-۱۶ میلی متر و میزان هاله عدم رشد ناشی از اریترومايسين ۲۲-۱۴ میلی متر بود "نیمه حساس" و به مواردی که میزان هاله عدم

^۱ DMSO

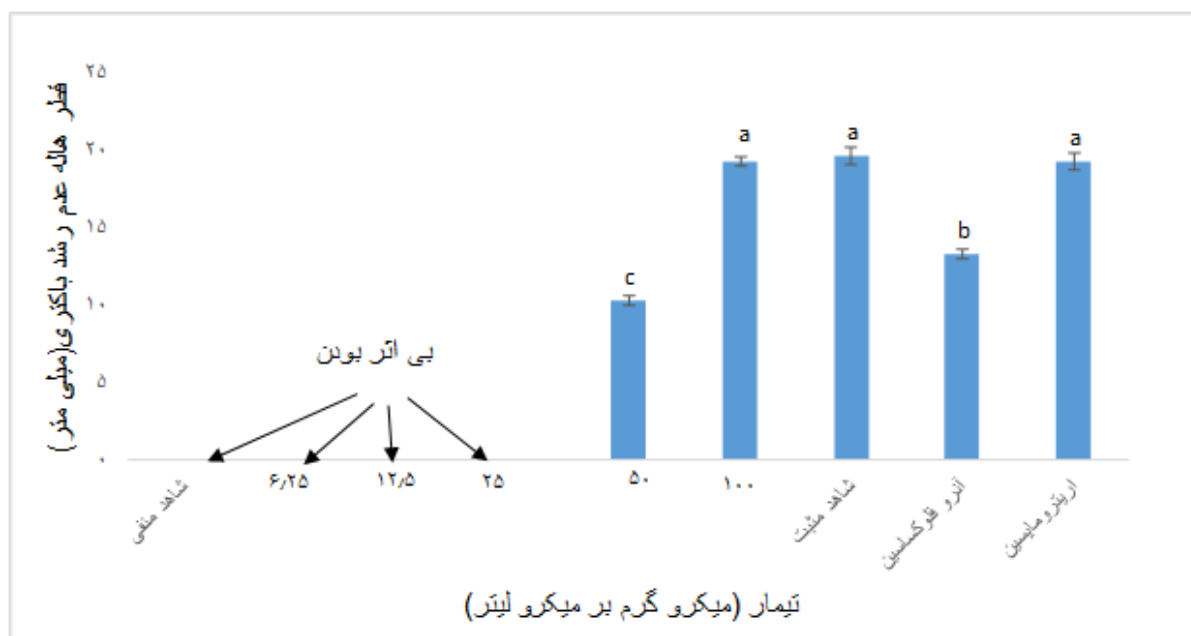
عدم رشد جدایه‌های ۱، ۲، ۳ و ۴ به ترتیب ۹/۳۳، ۲۱/۳۳، ۱۸/۶۷ و ۱۷/۶۷ میلی‌متر ثبت گردید و تمامی جدایه‌ها نسبت به اریترومايسين نیمه حساس بودند. مطابق با شکل‌های ۱ تا ۴ در مقایسه اثر ضد باکتریایی، در تمام جدایه‌ها عصاره اتانولی کرفس کوهی در غلظت‌های ۱۰۰ و ۵۰ میکروگرم بر میکرو لیتر از نظر قطر هاله عدم رشد باکتری تفاوت معنی‌داری باهم داشتند ($P < 0.05$).

جدول ۱: میانگین قطر هاله عدم رشد ۴ جدایه / استرپتوکوکوس / اینیایی (میلی‌متر) در حضور عصاره اتانولی برگ کرفس کوهی (با روش چاهک گذاری)

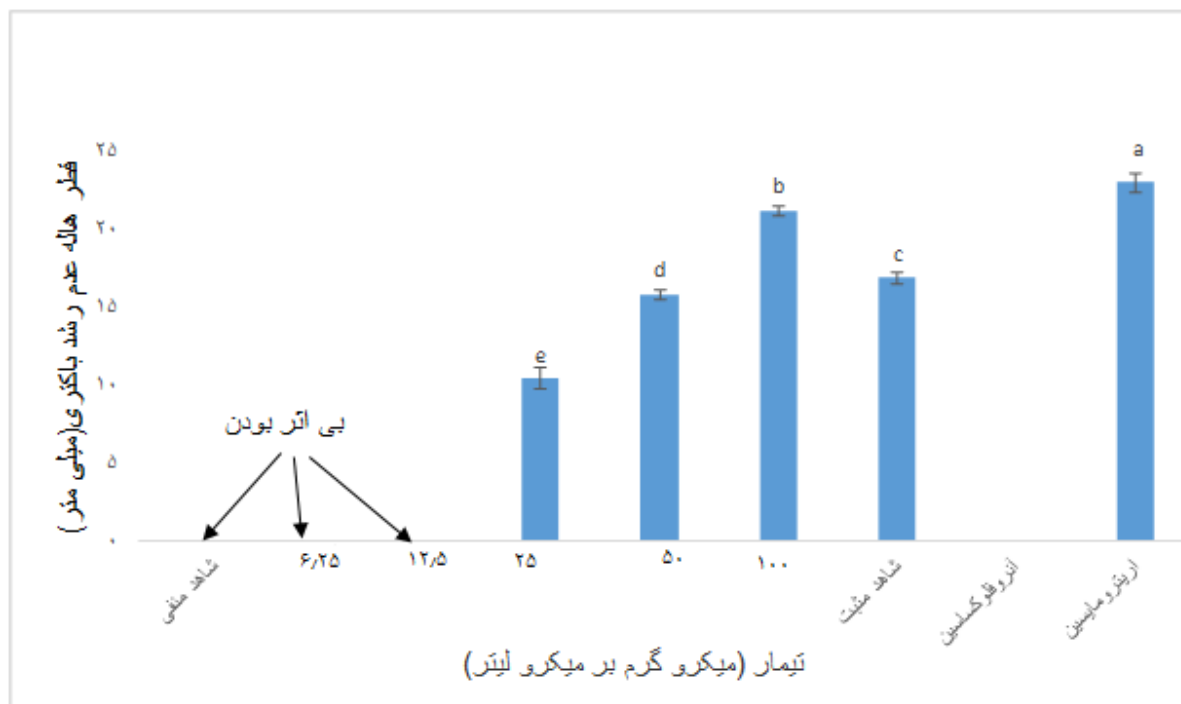
غلظت عصاره اتانولی برگ کرفس کوهی (میکروگرم بر میکرو لیتر)							
نوع عصاره	نوع باکتری	۱۰۰	۵۰	۲۵	۱۲/۵	۶/۲۵	کنترل مثبت / کنترل منفی
اتانولی	۱	۱۹/۳۳±۰/۳۳ ^a	۱۴/۳۳±۰/۳۳ ^b	۱۰/۳۳±۰/۳۳ ^c	-	-	۱۹/۶۷±۰/۳۳ ^a
اتانولی	۲	۱۹/۳۳±۰/۳۳ ^a	۱۴/۶۷±۰/۳۳ ^b	۹/۶۷±۰/۶۶ ^c	-	-	۱۵/۶۷±۰/۳۳ ^b
اتانولی	۳	۱۵/۳۳±۰/۳۳ ^a	۱۱ ^c	-	-	-	۱۵ ^b
اتانولی	۴	۱۸/۶۷±۰/۶۶ ^a	۱۱/۶۷±۰/۳۳ ^c	-	-	-	۱۵ ^b

کنترل منفی: DMSO

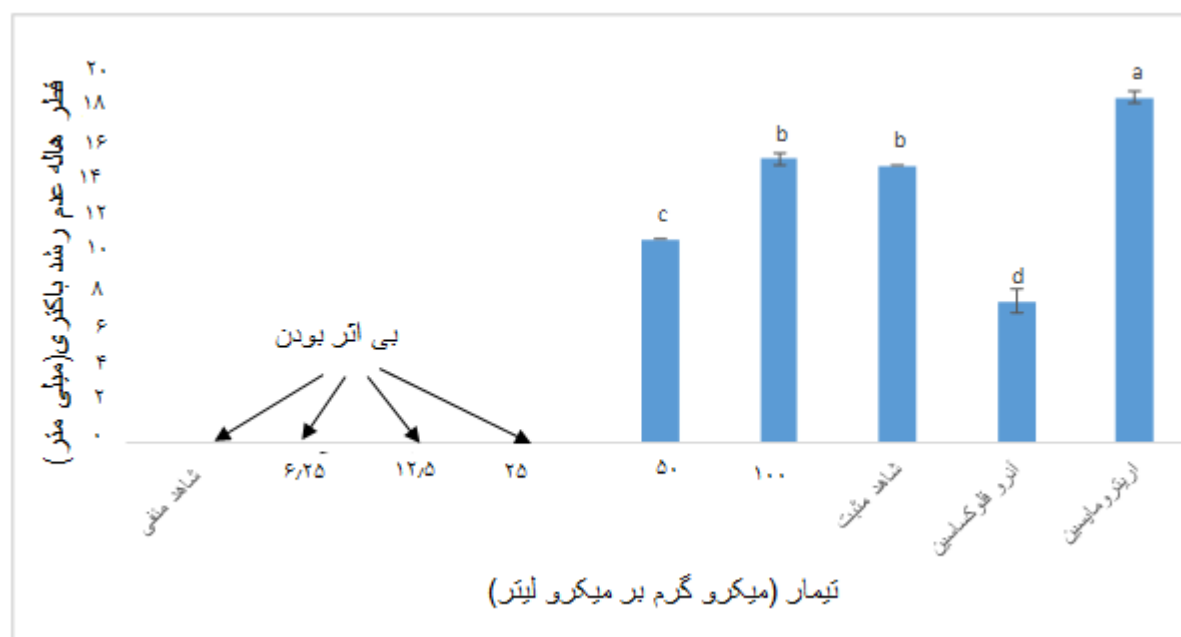
کنترل مثبت: اریترومايسين



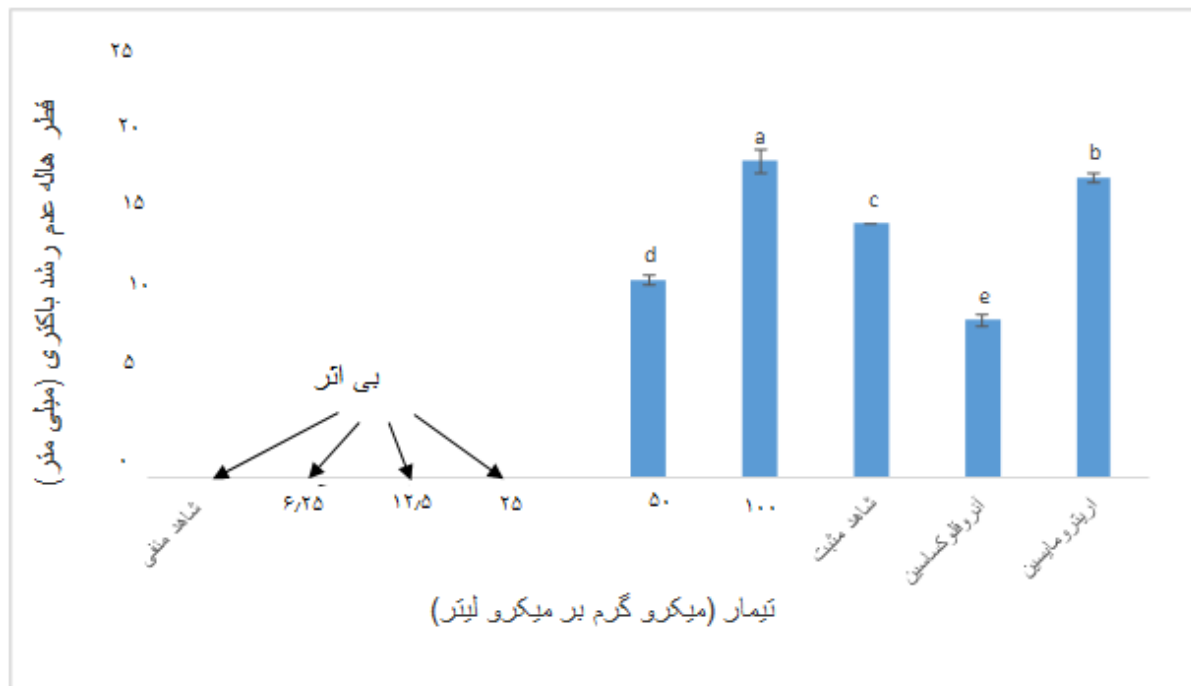
شکل ۱: مقایسه اثر ضد باکتریایی عصاره اتانولی برگ کرفس کوهی با آنتی‌بیوتیک‌های آنزوفلوکساسین و اریترومايسين علیه جدایه ۱



شکل ۲: مقایسه اثر ضد باکتریایی عصاره اتانولی برگ کرفس کوهی با آنتی بیوتیک های آنروفلورکساسین و اریترومايسين عليه جدایه ۲



شکل ۳: مقایسه اثر ضد باکتریایی عصاره اتانولی برگ کرفس کوهی با آنتی بیوتیک های آنروفلورکساسین و اریترومايسين عليه جدایه ۳



شکل ۴: مقایسه اثر ضد باکتریایی عصاره اتانولی برگ کرفس کوهی با آنتی‌بیوتیک‌های آنروفلوکساسین و اریترومايسين عليه جدایه ۴ جدول ۲: میانگین قطر هاله عدم رشد ۴ جدایه استرپتوکوکوس اینیایی بر حسب میلی‌متر در حضور آنتی‌بیوتیک‌های آنروفلوکساسین و استرپتومايسين (با روش دیسک گذاری)

نوع باکتری	نوع آنتی‌بیوتیک	حساس	نیمه حساس	مقاوم
۱	آنروفلوکساسین	-	۱۳/۳۳	-
	اریترومايسين	-	۱۹/۳۳	-
۲	آنروفلوکساسین	-	-	۰
	اریترومايسين	-	۲۱/۳۳	-
۳	آنروفلوکساسین	-	-	۷/۶۷
	اریترومايسين	-	۱۸/۶۷	-
۴	آنروفلوکساسین	-	-	۹/۳۳
	اریترومايسين	-	۱۷/۶۷	-

-: نشان‌دهنده عدم مهار کنندگی باکتری

بحث

مطالعه حاضر به منظور مقایسه اثر ضد باکتریایی عصاره اتانولی گیاه کرفس کوهی با آنتی‌بیوتیک‌های رایج مورد استفاده صورت گرفته است. نتایج مطالعه بیانگر این است که عصاره اتانولی کرفس کوهی بعد از

۲۰ ساعت در غلظت‌های ۱۲/۵، ۶/۲۵ میکرو گرم بر میکرو لیتر اثر بازدارنده‌ای را در برابر رشد جدایه‌های ۱ و ۲ استرپتوکوکوس اینیایی در محیط کشت نشان ندادند اما در غلظت‌های ۱۰۰، ۵۰ و ۲۵ میکرو گرم بر میکرو لیتر سبب مهار رشد جدایه‌های مذکور گردید.

عصاره تهیه‌شده در غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میکروگرم بر میکرو لیتر در جدایه‌های ۳ و ۴ سبب مهار رشد باکتری‌ها شدند. بیشترین اثر مهارکنندگی عصاره‌ها در غلظت‌های ۱۰۰ میکروگرم بر میکرو لیتر در دو جدایه ۱ و ۲ با میانگین قطر هاله ۱۹/۳۳ میلی‌متر به دست آمد. Ghasemi Pirbalouti و همکاران (۲۰۱۰) اثرات ضد باکتریایی اسانس و عصاره ۱۰ گونه گیاهی منحصربه‌فرد ایرانی از جمله کرفس کوهی را بر روی باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس*، *سودوموناس آئروژینوزا*، *کلبسیلا پنومونیه*، *اشرشیا کلای* را مورد بررسی قرار دادند. نتایج آن‌ها حاکی از آن بود که اسانس و عصاره کرفس کوهی در غلظت ۱۰۰ میکروگرم اثرات آنتی باکتریال بالایی با قطر بازداری ۹ تا ۱۷ میلی‌متر در مقابل باکتری‌های مورد آزمایش داشتند.

بین اثر بازدارندگی غلظت‌های مختلف عصاره اتانولی به کار گرفته‌شده در آزمایش و شاهد از نظر هاله‌های عدم رشد باکتری، اختلاف معنی‌داری وجود داشته است. همچنین بین غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میکروگرم بر میکرو لیتر عصاره اتانولی کرفس نسبت به آنروفلوکسازین از نظر قطر هاله عدم رشد باکتری تفاوت معنی‌داری وجود داشت. نتایج حاصل از این مطالعه نشان می‌دهد با افزایش غلظت عصاره اتانولی برگ کرفس کوهی هاله بازدارندگی سطح افزایش یافته که نشان می‌دهد فعالیت بازدارندگی عصاره اتانولی این گیاه فعالیتی وابسته به غلظت است و با افزایش غلظت عصاره، قطر هاله بازدارندگی نیز افزایش می‌یابد. حیدری Heidari Sureshjani و همکاران (۲۰۱۴) با بررسی اثر مهارکنندگی و کشندگی عصاره‌های آبی و

اتانولی کرفس کوهی بر *اشرشیا کلای*، *باسیلوس سرئوس*^۱، *لیستریا*^۲ در شرایط آزمایشگاهی نشان دادند که با افزایش غلظت عصاره اتانولی قطر هاله عدم رشد به‌طور معنی‌داری افزایش می‌کند که نتایج آن‌ها با نتایج مطالعه حاضر هم سویی دارد. در مطالعه Shahrani و همکاران (۲۰۱۴)، آلودگی بیش از ۷۶ درصد مزارع پرورش ماهی استان چهارمحال بختیاری بررسی شد و نتایج نشان‌دهنده مقاومت چندگانه همه جدایه‌ها به آنتی‌بیوتیک‌های رایج بود. حداقل و حداکثر مقاومت دارویی در مورد آنتی‌بیوتیک‌های جنتامایسین و آنروفلوکسازین به ترتیب ۳۰/۷ و ۶۵/۴ درصد بود که این نتایج با یافته‌های ما همخوانی دارد. Cabello و همکاران (۲۰۱۳) با مروری بر مطالعات صورت گرفته در رابطه با آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده در آبی‌پروری و مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایجادشده در آبزیان و مصرف‌کنندگان آبزیان بیان کردند که کلیه مطالعات صورت گرفته در این رابطه بیانگر مقاومت باکتری‌ها به آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده و به تبع آن به مخاطره انداختن سلامت مصرف‌کنندگان آبی است.

در پایان با توجه به نتایج حاصل از این مطالعه، عصاره اتانولی برگ کرفس کوهی در شرایط آزمایشگاهی^۳ دارای قابلیت ضد باکتریایی قابل ملاحظه‌ای روی *استرپتوکوکوس اینیایی* است و در ادامه لازم است مطالعات بیشتری در شرایط بالینی^۴ و آزمایشگاهی انجام شود تا عواملی همچون مناسب‌ترین میزان دوز مؤثر این عصاره بر باکتری، ارزیابی سمیت احتمالی عصاره، بررسی خواص، به دست آوردن دوز

^۱ *Bacillus cereus*

^۲ *Listeria innocua*

^۳ *in vivo*

^۴ *in vivo*

(*polium*) بر برخی از پاتوژن های مواد غذایی.

نشریه علوم باغبانی، ۲۸ (۴)، ۴۸۷-۴۹۵.

5. Abutbul, S., Golan-Goldhirsh, A., Barazani, O., Zilberg, D., 2004. Use of *Rosmarinus Officinalis* as a Treatment against *Streptococcus Iniae* in Tilapia (*Oreochromis Sp.*). *Aquaculture*, 238 (1-4): 97-105.
6. Agnew, W., Barnes, A.C., 2007. *Streptococcus Iniae*: An Aquatic Pathogen of Global Veterinary Significance and a Challenging Candidate for Reliable Vaccination. *Veterinary Microbiology*, 122 (1-2): 1-15.
7. Boyan, B., Hooper, J., Parisot J., 2008., Principles of Assessing Bacterial Susceptibility to Antibiotics Using the Agar Diffusion Method. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 61(6): 1295-1301.
8. Cabello, Felipe C., Henry P. Godfrey, Alexandra Tomova, Larisa Ivanova, Humberto Dölz, Ana Millanao, and Alejandro H. Buschmann., 2013. Antimicrobial Use in Aquaculture Re-Examined: Its Relevance to Antimicrobial Resistance and to Animal and Human Health. *Environmental Microbiology*, 15 (7): 1917-42.
9. Eldar, A., Horovitz, A., and Bercovier, H., 1997. Development and Efficacy of a Vaccine against *Streptococcus Iniae* Infection in Farmed Rainbow Trout. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 56 (1-2): 175-83.
10. Farhat, D., Pande, G., Joshi, M., Pathak, R., and Wankhede, Sh., 2013. A Study of Antibacterial Effect of Some Selected Essential Oils and Medicinal Herbs Against Acne Causing Bacteria. *International Journal of Pharmaceutical Science Invention*, 2 (1): 27-34.
11. Ghasemi Pirbalouti, A., Malekpoor, F., Enteshari, Sh., Yousefi, M., Momtaz, H., 2010. Antibacterial Activity of Some Folklore Medicinal Plants Used by Bakhtiari Tribal in Southwest Iran.

مؤثر و مکانیسم اثر ارزیابی شود. همچنین به طور کامل مشخص نیست که از بین اجزای متعدد عصاره این گیاه، کدام جزء باعث ایجاد این اثرات در ماهی شده است تا بتوان این عصاره را به عنوان یک ماده ضد میکروبی طبیعی و جدید معرفی کرد.

منابع

۱. سعیدی، ک.، امید بیگی، ر.، ۱۳۸۸. بررسی میزان و ترکیب اسیدهای چرب، میزان کل مواد فنولیکی و میزان اسانس بذر گیاه دارویی کلوس (*Kelussia odoratissima Mozaff*). فصلنامه تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، ۲۵ (۱)، ۱۱۳-۱۱۹.
۲. سلیمی، م.، ابراهیمی، ع.، شجاعی اسعدیه، ز.، ساعی دهکردی، س.س.، ۱۳۸۹. استخراج و شناسایی ترکیب های شیمیایی کرفس کوهی (*Kelussia odoratissima mozaff*). فصلنامه علمی پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، ۲۶ (۲)، ۱۴۷-۱۵۶.
۳. قادری، ر.، حسن پور، م.، سعادت جو، س.ع.، ۱۳۸۳. مقایسه اثر ضد باکتری عصاره الکلی گیاه کاسنی با آنتی بیوتیک های جنتامایسین و سفالکسین (مطالعه آزمایشگاهی). مجله دانشگاه علوم پزشکی بیرجند. ۱۱ (۴)، ۴۰-۴۵.
۴. مشرقی، م.، عزیزی، م.، عروجعلیان، ف.، شاه طهماسبی، ن.، ۱۳۹۳. بررسی ترکیبات موثره و اثرات ضد باکتریایی اسانس کرفس کوهی (*Kelussia odoratissima*) و کلپوره (*Teucrium*)

- Bacterial Diseases in Farmed Rainbow Trout (*Oncorhynchus mikyss*) in Mazandaran Province, Iran. Veterinary Research (Garmsar Branch), 8 (124): 1–12.
16. Soltani, M., Jamshidi, Sh., Sharifpour, I., 2005. Streptococcosis Caused by Streptococcus Iniae in Farmed Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Iran: Biophysical Characteristics and Pathogenesis. Bulletin of the European Association of Fish Pathologists, 25(3): 95–106.
 17. Soltani, M., Nikbakht, Gh., Mousavi, H.A. E., Ahmadzadeh, N., 2008. Epizootic Outbreaks of Lactococcosis Caused by Lactococcus Garvieae in Farmed Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Iran. Bulletin of the European Association of Fish Pathologists, 28 (5): 207–12.
 18. Wistreich, G.A., 1997. Microbiology Laboratory, Fundamentals and Applications 6th ed. USA: Prentice-Hall: 324.
 - International Journal of Biology, 2 (2): 55–63.
 12. Heidari Sureshjani, M., Tabatabaei Yazdi, F., Mortazavi, A., Shahidi, F., 2014. Comparison of the Inhibitory and Antibacterial Effect of Aqueous and Ethanolic Extract of *Kelussia Odoratissima* on Some Pathogenic Bacteria 'in Vitro'. Monthly Journal of Rafsanjan University of Medical Science, 13 (9): 775–84.
 13. Magaldi, S., Mata-Essayag, S., Hartung de Capriles C., Perez, C., Colella, M.T, Olaizola, C., Ontiveros Y., 2004. Well Diffusion for Antifungal Susceptibility Testing. International Journal of Infectious Diseases, 8 (1): 39–45.
 14. Shahrani, M., Raissy M., and Tajbakhsh. E., 2014. Study of Frequency and Antimicrobial Resistance of Lactococcus Garvieae in Rainbow Trout Fish in Chaharmahal va Bakhtiari Province. Biological Journal of Microorganism, 3 (11): 71–78.
 15. Soltani, M., Hazeri, M., Sharifpour, E., Mirzargar, S., Shohre, P., 2012. Study of